

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2003-199588

(43)Date of publication of application : 15.07.2003

(51)Int.Cl.

C12N 15/09  
A61K 38/00  
A61K 39/395  
A61K 45/00  
A61K 48/00  
A61P 25/00  
A61P 25/16  
A61P 25/28  
C07K 14/81  
C07K 16/40  
C12N 1/15  
C12N 1/19  
C12N 1/21  
C12N 5/10  
C12N 9/50  
C12P 21/02  
C12Q 1/37  
C12Q 1/68  
G01N 33/15  
G01N 33/50

(21)Application number : 2002-283631

(71)Applicant : DAI ICHI SEIYAKU CO LTD  
KAZUSA DNA KENKYUSHO

(22)Date of filing :

27.09.2002

(72)Inventor : OBARA OSAMU

NAGASE TAKAHIRO

OISHI MICHIO

YOKOTA HIROSHI

SHIMOMURA CHIEKO

(30)Priority

Priority number : 2001301800 Priority date : 28.09.2001 Priority country : JP

(54) NEW UBIQUITIN SPECIFIC PROTEASE

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To find out a new ubiquitin specific protease (USP), and provide an useful or new USP and a polypeptide or peptide derived from it, a polynucleotide encoding the same, an antibody against the polypeptide or peptide, an inhibitor, antagonist and

activating agent of the physiological activity of the new USP, a medicinal composition by using them, a method for producing the polypeptide or peptide by a gene engineering method, a method for identifying the inhibitor, antagonist, and activator, and a method for diagnosing diseases associated with the new USP and a kit.

**SOLUTION:** This polypeptide consisting of a specific amino acid sequence, the polypeptide and peptide derived from the polypeptide and the polynucleotide encoding these polypeptide and peptide or its complementing chain.

**\* NOTICES \***

JPO and INPIT are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
2. \*\*\*\* shows the word which can not be translated.
3. In the drawings, any words are not translated.

---

**DETAILED DESCRIPTION**

---

**[Detailed Description of the Invention]****[0001]**

[Industrial Application] This invention relates to the gene which encodes new protease (it may be hereafter called USP for short) and it which have deubiquitin-ized activity. Polypeptide or peptide which has all or a part of amino acid sequences of new USP in more detail, The polynucleotide which is the polynucleotide which encodes this polypeptide or this peptide, or its complementary strand, The transformant containing the recombinant vector containing this polynucleotide, and this recombinant vector, The compound which has the antibody, this polypeptide or this polynucleotide to this polypeptide or this peptide, and an interaction, A manufacturing method of the antagonist of this polypeptide, the medicinal composition containing these one or more sorts, this polypeptide, or this peptide, It is related with the reagent kit used for the measuring method of this polypeptide, this peptide or this polynucleotide, the identification method of the compound which has an interaction and this polypeptide, this peptide, or this polynucleotide and this identification method, or this measuring method.

**[0002]**

[Description of the Prior Art] Ubiquitin (it may call for short the following Ub) is a peptide chain which consists of 76 amino acid residue, and the amino acid sequence is saved from yeast even to *Homo sapiens* at the altitude. The role of Ub in the living body is various, and is participating in many vital reactions, such as oncogenesis (nonpatent literatures 1-4), a cell cycle (nonpatent literatures 5-7), virus infection (nonpatent literature 8), and a neurodegenerative disease (nonpatent literatures 9-11).

[0003] The most important function of Ub is the work as a signal in the proteolysis in 26S proteasome. With a ubiquitin activation enzyme (E1), a ubiquitin binding enzyme (E2), and a series of ubiquitin-ized enzymes called ubiquitin ligase (E3), the isopeptide bond of the Ub is

carried out to target protein, and it forms a poly ubiquitin chain. When the poly ubiquitin chain is recognized by proteasome as a decomposition signal, the ubiquitin-ized protein is disassembled.

[0004] Existence of the deubiquitin-ized enzyme (DUB) which carries out the catalyst of the deubiquitin-ized reaction for which Ub dissociates from the ubiquitin-ized protein on the other hand is reported. DUB is roughly classified into two families from the structure (nonpatent literatures 12-14). One is called ubiquitin C terminal hydrolase (Ubiquitin C-terminal hydrolase) (UCH), there are many things of molecular weight 20kDa to 30kDa, and the primary structure is saved between different species. UCH dissociates Ub, when the low molecule has mainly combined with the C terminal of Ub. Another is what is called ubiquitin unique protease (Ubiquitin specific protease) (USP, UBP, or UCH\_type II), The molecular weight is as various as 40kDa to 150kDa, and there is little similarity of the amino acid sequence between different species. USP as the active domain A cystein (Cys) domain (Cys box), It is a cysteine protease which makes an active site t

**\* NOTICES \***

JPO and INPIT are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
2. \*\*\*\* shows the word which can not be translated.
3. In the drawings, any words are not translated.

---

**CLAIMS**

---

**[Claim(s)]**

[Claim 1] Polypeptide chosen from the following group;

\*\* Polypeptide which becomes the array number 1 of a Sequence listing from an amino acid sequence of a description, \*\* Polypeptide containing polypeptide which becomes the array number 1 of a Sequence listing from an amino acid sequence of a description, \*\* It has the homology on polypeptide which becomes the array number 1 of a Sequence listing from an amino acid sequence of a description, and at least about 70% of amino acid sequence, And polypeptide which has deubiquitin-ized activity and polypeptide which has variation, such as deletion of amino acid of one piece thru/or some, substitution, addition, or insertion, among an amino acid sequence in any 1 polypeptide of the \*\* aforementioned \*\* to \*\*, and has deubiquitin-ized activity.

[Claim 2] Polypeptide which is the polypeptide chosen from the following group and has deubiquitin-ized activity;

\*\* Polypeptide which becomes the array number 1 of a Sequence listing from an amino acid sequence of a description, \*\* Polypeptide containing polypeptide which becomes the array number 1 of a Sequence listing from an amino acid sequence of a description, \*\* Polypeptide which becomes the array number 1 of a Sequence listing from an amino acid sequence of a description, and polypeptide which has the homology on at least about 70% of amino acid sequence, And polypeptide which has variation, such as deletion of amino acid of one piece thru/or some, substitution, addition, or insertion, among an amino acid sequence in any 1 polypeptide of the \*\* aforementioned \*\* to \*\*.

[Claim 3] Peptide which has at least about five continuous amino acid sequences of an amino acid sequence of a description in the array number 1 of a Sequence listing.

[Claim 4] Polypeptide chosen from the following group;

(a) Polypeptide which consists of 521 continuous amino acid residue from amino acid residue

of the 1st amino terminal of polypeptide which becomes the array number 1 of a Sequence listing from an amino acid sequence of a description to the 521st amino acid residue, (b) It has the homology on polypeptide which consists of 521 continuous amino acid residue from amino acid residue of the 1st amino terminal of polypeptide which becomes the array number 1 of a Sequence listing from an amino acid sequence of a description to the 521st amino acid residue, and at least about 70% of amino acid sequence, And in polypeptide of polypeptide which checks the deubiquitin-ized activity of the polypeptide according to claim 1 or 2 and (c) above (a), or the above (b), Polypeptide which has variation, such as deletion of amino acid of one piece thru/or some, substitution, addition, or insertion, among an amino acid sequence, and checks the deubiquitin-ized activity of the polypeptide according to claim 1 or 2.

[Claim 5]Polypeptide which is the polypeptide chosen from the following group and checks the deubiquitin-ized activity of the polypeptide according to claim 1 or 2;

(a) Polypeptide which consists of 521 continuous amino acid residue from amino acid residue of the 1st amino terminal of polypeptide which becomes the array number 1 of a Sequence listing from an amin

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号  
特開2003-199588  
(P2003-199588A)

(43)公開日 平成15年7月15日 (2003.7.15)

(51)Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	テマコト <sup>8</sup> (参考)
C 1 2 N 15/09	Z NA	A 6 1 K 39/395	D 2 G 0 4 5
A 6 1 K 38/00		45/00	4 B 0 2 4
39/395		48/00	4 B 0 5 0
45/00		A 6 1 P 25/00	4 B 0 6 3
48/00		25/16	4 B 0 6 4

審査請求 未請求 請求項の数29 O L (全 40 頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2002-283631(P2002-283631)

(22)出願日 平成14年9月27日 (2002.9.27)

(31)優先権主張番号 特願2001-301800(P2001-301800)

(32)優先日 平成13年9月28日 (2001.9.28)

(33)優先権主張国 日本 (JP)

(71)出願人 000002831

第一製薬株式会社

東京都中央区日本橋3丁目14番10号

(71)出願人 596175810

財団法人かずさディー・エヌ・エー研究所

千葉県木更津市かずさ鎌足2-6-7

(72)発明者 小原 收

千葉県木更津市矢那1532番3号 財団法人  
かずさディー・エヌ・エー研究所内

(74)代理人 100088904

弁理士 庄司 隆

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 新規ユビキチン特異プロテアーゼ

(57)【要約】 (修正有)

【課題】 新規U S Pを見い出し、有用性ある新規U S Pおよびこれに由来するポリペプチドまたはペプチド、これらをコードするポリヌクレオチド、該ポリペプチドまたはペプチドに対する抗体、新規U S Pの生理活性の阻害剤、拮抗剤、賦活剤、これらを利用した医薬組成物、並びに遺伝子工学手法による該ポリペプチドまたはペプチドの製造法、上記阻害剤、拮抗剤、賦活剤の同定方法、新規U S Pが関連する疾病の診断のための方法およびキットを提供する。

【解決手段】 特定のアミノ酸配列からなるポリペプチド、当該ポリペプチドに由来するポリペプチドおよびペプチド、これらポリペプチドおよびペプチドをコードするポリヌクレオチドまたはその相補鎖。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 下記の群より選ばれるポリペプチド；  
 ①配列表の配列番号1に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、  
 ②配列表の配列番号1に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドを含有するポリペプチド、  
 ③配列表の配列番号1に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドと少なくとも約70%のアミノ酸配列上の相同意を有し、かつ脱ユビキチン化活性を有するポリペプチド、および  
 ④前記①から③のいずれか1のポリペプチドにおいてアミノ酸配列中1個乃至数個のアミノ酸の欠失、置換、付加、または挿入といった変異を有し、かつ脱ユビキチン化活性を有するポリペプチド。

【請求項2】 下記の群より選ばれるポリペプチドであって、脱ユビキチン化活性を有するポリペプチド；  
 ①配列表の配列番号1に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、  
 ②配列表の配列番号1に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドを含有するポリペプチド、  
 ③配列表の配列番号1に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドと少なくとも約70%のアミノ酸配列上の相同意を有するポリペプチド、および  
 ④前記①から③のいずれか1のポリペプチドにおいてアミノ酸配列中1個乃至数個のアミノ酸の欠失、置換、付加、または挿入といった変異を有するポリペプチド。

【請求項3】 配列表の配列番号1に記載のアミノ酸配列の少なくとも約5個の連続するアミノ酸配列を有するペプチド。

【請求項4】 下記の群より選ばれるポリペプチド；  
 (a) 配列表の配列番号1に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドのN末端第1番目のアミノ酸残基から第521番目のアミノ酸残基までの521個の連続するアミノ酸残基からなるポリペプチド、  
 (b) 配列表の配列番号1に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドのN末端第1番目のアミノ酸残基から第521番目のアミノ酸残基までの521個の連続するアミノ酸残基からなるポリペプチドと少なくとも約70%のアミノ酸配列上の相同意を有し、かつ請求項1または請求項2に記載のポリペプチドの脱ユビキチン化活性を阻害するポリペプチド、および  
 (c) 前記(a)または前記(b)のポリペプチドにおいて、アミノ酸配列中1個乃至数個のアミノ酸の欠失、置換、付加、または挿入といった変異を有し、かつ請求項1または請求項2に記載のポリペプチドの脱ユビキチン化活性を阻害するポリペプチド。

【請求項5】 下記の群より選ばれるポリペプチドであって、請求項1または請求項2に記載のポリペプチドの脱ユビキチン化活性を阻害するポリペプチド；  
 (a) 配列表の配列番号1に記載のアミノ酸配列からな

るポリペプチドのN末端第1番目のアミノ酸残基から第521番目のアミノ酸残基までの521個の連続するアミノ酸残基からなるポリペプチド、

(b) 配列表の配列番号1に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドのN末端第1番目のアミノ酸残基から第521番目のアミノ酸残基までの521個の連続するアミノ酸残基からなるポリペプチドと少なくとも約70%のアミノ酸配列上の相同意を有するポリペプチド、および

(c) 前記(a)または前記(b)のポリペプチドにおいて、アミノ酸配列中1個乃至数個のアミノ酸の欠失、置換、付加、または挿入といった変異を有するポリペプチド。

【請求項6】 配列表の配列番号1に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドのN末端第1番目のアミノ酸残基から第521番目のアミノ酸残基までの521個の連続するアミノ酸残基からなるポリペプチドのアミノ酸配列の少なくとも約5個の連続するアミノ酸配列を有し、かつ請求項1または請求項2に記載のポリペプチドの脱ユビキチン化活性を阻害するペプチド。

【請求項7】 請求項1若しくは請求項2に記載のポリペプチド、または請求項3に記載のペプチドをコードするポリヌクレオチドまたはその相補鎖。

【請求項8】 配列表の配列番号2に記載の塩基配列からなるポリヌクレオチドまたはその相補鎖。

【請求項9】 配列表の配列番号2に記載の塩基配列からなるポリヌクレオチドまたはその相補鎖の少なくとも約15個の連続する塩基配列からなるポリヌクレオチド。

【請求項10】 請求項7から請求項9のいずれか1項に記載のポリヌクレオチドまたはその相補鎖とストリジメントな条件下でハイブリダイゼーションするポリヌクレオチド。

【請求項11】 請求項4若しくは請求項5に記載のポリペプチド、または請求項6に記載のペプチドをコードするポリヌクレオチドまたはその相補鎖。

【請求項12】 配列表の配列番号4に記載の塩基配列からなるポリヌクレオチドまたはその相補鎖。

【請求項13】 請求項7から請求項12のいずれか1項に記載のポリヌクレオチドを含有する組換えベクター。

【請求項14】 組換えベクターが発現組換えベクターである請求項13に記載の組換えベクター。

【請求項15】 請求項13または請求項14に記載の組換えベクターを導入されてなる形質転換体。

【請求項16】 請求項1、請求項2、請求項4若しくは請求項5に記載のポリペプチド、または請求項3若しくは請求項6に記載のペプチドの製造方法であって、請求項14に記載の組換えベクターを導入されてなる形質転換体を培養する工程、または請求項13若しくは請求

項14に記載の組換えベクターを利用した無細胞蛋白質合成手段を含む方法。

【請求項17】 請求項1、請求項2、請求項4若しくは請求項5に記載のポリペプチド、または請求項3若しくは請求項6に記載のペプチドを免疫学的に認識する抗体。

【請求項18】 脱ユビキチン化活性を阻害する請求項17に記載の抗体。

【請求項19】 請求項1若しくは請求項2に記載のポリペプチドと相互作用してその生理活性を阻害する若しくは増強する化合物、および／または請求項7若しくは請求項8に記載のポリヌクレオチドと相互作用してその発現を阻害する若しくは促進する化合物の同定方法であって、請求項1、請求項2、請求項4若しくは請求項5に記載のポリペプチド、請求項3若しくは請求項6に記載のペプチド、請求項7から請求項12のいずれか1項に記載のポリヌクレオチド、請求項13若しくは請求項14に記載の組換えベクター、請求項15に記載の形質転換体、および請求項17若しくは請求項18に記載の抗体のうちの少なくともいずれか1つを用いることを特徴とする方法。

【請求項20】 請求項1若しくは請求項2に記載のポリペプチドと相互作用してその生理活性を阻害する若しくは増強する化合物、および／または請求項7若しくは請求項8に記載のポリヌクレオチドと相互作用してその発現を阻害する若しくは促進する化合物の同定方法であって、化合物と該ポリペプチドまたは該ポリヌクレオチドとの相互作用を可能にする条件下で、該ポリペプチドまたは該ポリヌクレオチドと化合物とを接触させ、次いで、化合物と該ポリペプチドまたは該ポリヌクレオチドとの相互作用により生じるシグナルの存在若しくは不存在または変化を検出することにより、化合物が該ポリペプチドまたはポリヌクレオチドと相互作用して、該ポリペプチドの生理活性または該ポリヌクレオチドの発現を阻害または促進するかどうかを決定する方法。

【請求項21】 請求項19または請求項20に記載の方法で同定された化合物。

【請求項22】 請求項1若しくは請求項2に記載のポリペプチドと相互作用して脱ユビキチン化活性を阻害する若しくは増強する化合物、または請求項7若しくは請求項8に記載のポリヌクレオチドと相互作用してその発現を阻害する若しくは促進する化合物。

【請求項23】 請求項4若しくは請求項5に記載のポリペプチドおよび／または請求項6に記載のペプチドからなる、請求項1若しくは請求項2に記載のポリペプチドの拮抗剤。

【請求項24】 請求項1、請求項2、請求項4または請求項5に記載のポリペプチド、請求項3または請求項6に記載のペプチド、請求項7から請求項12のいずれか1項に記載のポリヌクレオチド、請求項13または請

求項14に記載の組換えベクター、請求項15に記載の形質転換体、請求項17または請求項18に記載の抗体、請求項21または請求項22に記載の化合物、および請求項23に記載の拮抗剤のうちの少なくともいずれか1つを含有することを特徴とする医薬組成物。

【請求項25】 請求項1、請求項2、請求項4または請求項5に記載のポリペプチド、請求項3または請求項6に記載のペプチド、請求項7から請求項12のいずれか1項に記載のポリヌクレオチド、請求項13または請求項14に記載の組換えベクター、請求項15に記載の形質転換体、請求項17または請求項18に記載の抗体、請求項21または請求項22に記載の化合物、および請求項23に記載の拮抗剤のうちの少なくともいずれか1つを含有することを特徴とする神経変性疾患の防止剤および／または治療剤。

【請求項26】 前記神経変性疾患がアルツハイマー病および／またはパーキンソン病である請求項25に記載の神経変性疾患の防止剤および／または治療剤。

【請求項27】 請求項1、請求項2、請求項4または請求項5に記載のポリペプチド、請求項3または請求項6に記載のペプチド、請求項7から請求項12のいずれか1項に記載のポリヌクレオチド、請求項13または請求項14に記載の組換えベクター、請求項15に記載の形質転換体、請求項17または請求項18に記載の抗体、請求項21または請求項22に記載の化合物、および請求項23に記載の拮抗剤のうちの少なくともいずれか1つを含有することを特徴とする筋萎縮症の防止剤および／または治療剤。

【請求項28】 請求項1、請求項2、請求項4若しくは請求項5に記載のポリペプチド、または請求項7、請求項8、請求項11若しくは請求項12に記載のポリヌクレオチドを定量的あるいは定性的に測定する方法。

【請求項29】 請求項1、請求項2、請求項4または請求項5に記載のポリペプチド、請求項3または請求項6に記載のペプチド、請求項7から請求項12のいずれか1項に記載のポリヌクレオチド、請求項13または請求項14に記載の組換えベクター、請求項15に記載の形質転換体、請求項17または請求項18に記載の抗体、および請求項23に記載の拮抗剤のうちの少なくともいずれか1つを含んでなる試薬キット。

#### 【発明の詳細な説明】

##### 【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は、脱ユビキチン化活性を有する新規なプロテアーゼ（以下、U S Pと略称することもある）およびそれをコードする遺伝子に関するものである。さらに詳しくは、新規U S Pのアミノ酸配列の全部または一部を有するポリペプチドまたはペプチド、該ポリペプチドまたは該ペプチドをコードするポリヌクレオチドまたはその相補鎖であるポリヌクレオチド、該ポリヌクレオチドを含有する組換えベクター、該組換え

ベクターを含む形質転換体、該ペプチドまたは該ペプチドに対する抗体、該ペプチドまたは該ペリヌクレオチドと相互作用を有する化合物、該ペプチドの拮抗剤、これらの1種以上を含む医薬組成物、該ペプチドまたは該ペプチドの製造方法、該ペプチドまたは該ペプチドまたは該ペリヌクレオチドと相互作用を有する化合物の同定方法、該ペプチドまたは該ペプチドまたは該ペリヌクレオチドの測定方法、並びに該同定方法または該測定方法に使用する試薬キットに関する。

#### 【0002】

【従来の技術】ユビキチン（以下Ubと略称することもある）は76個のアミノ酸残基からなるペプチド鎖であり、そのアミノ酸配列は酵母からヒトまで高度に保存されている。Ubの生体内での役割は様々であり、発癌（非特許文献1～4）、細胞周期（非特許文献5～7）、ウイルス感染（非特許文献8）、および神経変性疾患（非特許文献9～11）等の多くの生体反応に関与している。

【0003】Ubの最も重要な機能は、26Sプロテアソームでの蛋白分解におけるシグナルとしての働きである。ユビキチン活性化酵素（E1）、ユビキチン結合酵素（E2）およびユビキチンリガーゼ（E3）といった一連のユビキチン化酵素によって、Ubは標的蛋白質にイソペプチド結合し、ポリユビキチン鎖を形成する。そのポリユビキチン鎖が分解シグナルとしてプロテアソームに認識されることにより、ユビキチン化された蛋白質は分解される。

【0004】一方、ユビキチン化された蛋白質からUbが解離する脱ユビキチン化反応を触媒する脱ユビキチン化酵素（DUB）の存在が報告されている。DUBは、その構造から大きく2つのファミリーに分類されている（非特許文献12～14）。1つはユビキチンC末端ヒドロラーゼ（Ubiquitin C-terminal hydrolase）（UCH）と呼ばれるもので、分子量20kDaから30kDaのものが多く、異種間で一次構造が保存されている。UCHは主にUbのC末端に低分子が結合している場合にUbを解離する。もう一つはユビキチン特異プロテアーゼ（Ubiquitin specific protease）（USP、UBP、あるいはUCH\_タイプII）と呼ばれるもので、その分子量は40kDaから150kDaと様々であり、異種間でのアミノ酸配列の共通性が少ない。USPはその活性ドメインとしてシステイン（Cys）ドメイン（Cys box）、ヒスチジン（His）ドメイン（His box）およびアスパラギン酸（Asp）ドメインを持ち、Cysドメイン内に存在するシステイン残基を活性部位とするシステインプロテアーゼである。また、USPのN末端側配列が基質認識に関与するという報告（非特許文献15）がある。USPはUb

のC末端に高分子が結合している場合にUbを解離する。

【0005】USPの生体内での機能は大きく3つに分けることができる。その1は、リボゾーム蛋白融合ユビキチンやペプチド結合型ポリユビキチン鎖といった前駆体UbからUbを生成する機能である。これにはUSPの1つであるUb-CEP52等が関与している。その2は、イソペプチド結合をしたユビキチン化蛋白質からUbを解離する機能であり、蛋白質のユビキチン化を抑制することにより蛋白質の分解を抑制する。その3は、プロテアソームにより分解された後のイソペプチド結合型ポリユビキチン鎖を解体する機能であり、例えば、USP5として知られているイソペプチダーゼTがこの機能を有している（非特許文献16）。

【0006】UbおよびUSP等から構成されるユビキチンシステムの機能の1つは、生体内で生じた異常蛋白質の除去、および転写因子やシグナル伝達因子等の分解による量的調節等であり（非特許文献17）、USPの機能障害はこのシステムの異常をきたす。USPの異常と発癌や神経変性疾患との関連が示唆されている（非特許文献17～19）。例えば、アルツハイマー病やパーキンソン病で観察される蛋白質凝集体の多くが抗ユビキチン抗体に反応することが報告されている（非特許文献17）。また、USPは染色体構造の維持にも関与しており、ユビキチン化されたヒストンの脱ユビキチン化が染色体凝集に重要であることが知られている（非特許文献20）、USPファミリーの1つであるUSP16がH2Aを脱ユビキチン化することが報告されている（非特許文献21）。さらに、ユビキチン経路が筋萎縮症と関連していることについても報告されている（非特許文献22）。

#### 【0007】

【非特許文献1】「フェブス レターズ（FEBS Letters）」, 1997年, 第420巻, p. 25-

【非特許文献2】「オンコジーン（Oncogene）」, 1993年, 第8巻, p. 2307-

【非特許文献3】「オンコジーン（Oncogene）」, 1995年, 第10巻, p. 2179-

【非特許文献4】「ネイチャー（Nature）」, 1993年, 第366巻, p. 313-

【非特許文献5】「アニュアル レビュー オブ バイオケミストリー（Annual Review of Biochemistry）」, 1998年, 第67巻, p. 425-

【非特許文献6】「プロシーディング オブ ザ ナショナル アカデミー オブ サイエンシズ オブ ザ ユナイテッド ステイツ オブ アメリカ（Proceedings Of The National Academy Of Sciences Of The

United States of America」, 1996年, 第93巻, p. 3275-  
【非特許文献7】「ジャーナル オブ バイオロジカル ケミストリー (Journal of Biological Chemistry)」, 1997年, 第272巻, p. 51-  
【非特許文献8】「エンボ ジャーナル (EMBO Journal)」, 1997年, 第16巻, p. 1519-  
【非特許文献9】「トレンドス イン ニューロサイエンシズ (Trends In Neuroscience)」, 1998年, 第21巻, p. 516-  
【非特許文献10】「ネイチャー (Nature)」, 1998年, 第395巻, p. 451-452  
【非特許文献11】「ネイチャー ジェネティクス (Nature Genetics)」, 1998年, 第23巻, p. 47-  
【非特許文献12】「バイオケミカル アンド バイオフィジカル リサーチコミュニケーションズ (Biological And Biophysical Research Communication)」, 1999年, 第266巻, p. 633-  
【非特許文献13】「ファセブ ジャーナル (FASEB Journal)」, 1997年, 第11巻, p. 1245-  
【非特許文献14】「クリティカル レビューズ イン バイオケミストリーアンド モレキュラー バイオロジー (Critical Reviews In Biochemistry And Molecular Biology)」, 1998年, 第33巻, p. 337-  
【非特許文献15】「ジャーナル オブ バイオロジカル ケミストリー (Journal Of Biological Chemistry)」, 2001年, 第276巻, p. 20357-20363  
【非特許文献16】「バイオケミストリー (Biochemistry)」, 1995年, 第34巻, p. 14535-  
【非特許文献17】鈴木俊顯, 志村秀樹, 服部信孝, 「ユビキチンと神経変性疾患」, 「実験医学」, 2000年, 第18巻, p. 1478-1482  
【非特許文献18】鈴木俊顯, 「脱ユビキチン化酵素の多彩な作用」, 「実験医学」, 2001年, 第19巻, p. 193-  
【非特許文献19】阿南正, 中尾光善, 「ユビキチン病の分子機構」, 「蛋白質・核酸・酵素」, 1999年, 第44巻, p. 776-  
【非特許文献20】「バイオエッセイズ (BioEssays)」, 1992年, 第14巻, p. 9-  
【非特許文献21】「プロシーディング オブ ザ

ナショナル アカデミーオブ サイエンシズ オブ ザ ユナイテッド ステイツ オブ アメリカ (Proceedings Of The National Academy Of Sciences Of The United States of America)」, 1999年, 第96巻, p. 2828-  
【非特許文献22】「カレント オピニオン イン クリニカル ニュートリション アンド メタボリック ケア (Current Opinion In Clinical Nutrition And Metabolic care)」, 2001年, 第4巻, p. 183-190  
【非特許文献23】「かずさDNA研究所DNA配列解析分析情報データベース, ヒュージ (HUGE)」, インターネット<<http://www.kazusa.or.jp/huge/gfpage>>  
【0008】

【発明が解決しようとする課題】生体内には多くのUSPが存在しており、それぞれ異なる基質特異性や生理機能を有していると考えられる。従って、USPの異常に起因する疾患、例えば発癌や神経変性疾患等の解明、並びにそれらの防止、治療および診断を可能とする上では、数多くの新たなUSPを発見し利用することが必要である。

【0009】本発明が解決しようとする課題の一つは、新規なUSPを見いだし、生体内における該USPの制御を可能にすることである。より具体的には、新規な特性をもつUSPを提供することであり、それに伴い有用性がある新規USP由来のポリペプチドまたはペプチド、これらをコードするポリヌクレオチド、および該ポリペプチドまたは該ペプチドに対する抗体を提供することである。さらに、新規USPの発現および/またはその生理活性の阻害剤、拮抗剤または促進剤等の同定を行うことであり、同定された化合物を提供することである。また、上記ポリペプチドまたは上記ペプチド、上記ポリヌクレオチド、上記抗体、および上記化合物を利用した医薬組成物、並びに上記ポリペプチドまたは上記ペプチドまたは上記ポリヌクレオチドの測定方法を提供することである。さらにまた、上記ポリヌクレオチドを用いた遺伝子工学手法による新規USP由来のポリペプチドまたはペプチドの製造法を提供することである。

【0010】  
【課題を解決するための手段】上記課題を解決すべく本発明者らは鋭意努力し、新規特性を有するUSP遺伝子およびその蛋白質を得ることに成功した。より具体的には、かずさDNA研究所ヒト長鎖cDNA解析情報データベースから、新規プロテアーゼ候補遺伝子としてcDNAクローニングを抽出し、大腸菌を用いた遺伝子発現系で発現させて該遺伝子がコードする蛋白質を得た。さらに、得られた蛋白質が脱ユビキチン化活性を示すこと、

またN末端側第1番目から第521番目の連続する521個のアミノ酸残基を欠失した当該蛋白質は脱ユビキチン化活性を示さないことを確認し、本発明を完成した。

【0011】すなわち、本発明は、(1)下記の群より選ばれるポリペプチド；

①配列表の配列番号1に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、

②配列表の配列番号1に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドを含有するポリペプチド、

③配列表の配列番号1に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドと少なくとも約70%のアミノ酸配列上の相同意を有し、かつ脱ユビキチン化活性を有するポリペプチド、

および

④前記①から③のいずれか1のポリペプチドにおいてアミノ酸配列中1個乃至数個のアミノ酸の欠失、置換、付加、または挿入といった変異を有し、かつ脱ユビキチン化活性を有するポリペプチド、(2)下記の群より選ばれるポリペプチドであって、脱ユビキチン化活性を有するポリペプチド；

①配列表の配列番号1に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチド、

②配列表の配列番号1に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドを含有するポリペプチド、

③配列表の配列番号1に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドと少なくとも約70%のアミノ酸配列上の相同意を有するポリペプチド、および

④前記①から③のいずれか1のポリペプチドにおいてアミノ酸配列中1個乃至数個のアミノ酸の欠失、置換、付加、または挿入といった変異を有するポリペプチド、

(3)配列表の配列番号1に記載のアミノ酸配列の少なくとも約5個の連続するアミノ酸配列を有するペプチド、(4)下記の群より選ばれるポリペプチド；

(a)配列表の配列番号1に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドのN末端第1番目のアミノ酸残基から第521番目のアミノ酸残基までの521個の連続するアミノ酸残基からなるポリペプチド、

(b)配列表の配列番号1に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドのN末端第1番目のアミノ酸残基から第521番目のアミノ酸残基までの521個の連続するアミノ酸残基からなるポリペプチドと少なくとも約70%のアミノ酸配列上の相同意を有し、かつ前記(1)または前記(2)のポリペプチドの脱ユビキチン化活性を阻害するポリペプチド、および

(c)前記(a)または前記(b)のポリペプチドにおいて、アミノ酸配列中1個乃至数個のアミノ酸の欠失、置換、付加、または挿入といった変異を有し、かつ前記(1)または前記(2)のポリペプチドの脱ユビキチン化活性を阻害するポリペプチドであって、前記(1)または前記

(2)のポリペプチドの脱ユビキチン化活性を阻害するポリペプチド；

(a)配列表の配列番号1に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドのN末端第1番目のアミノ酸残基から第521番目のアミノ酸残基までの521個の連続するアミノ酸残基からなるポリペプチド、

(b)配列表の配列番号1に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドのN末端第1番目のアミノ酸残基から第521番目のアミノ酸残基までの521個の連続するアミノ酸残基からなるポリペプチドと少なくとも約70%のアミノ酸配列上の相同意を有するポリペプチド、および

(c)前記(a)または前記(b)のポリペプチドにおいて、アミノ酸配列中1個乃至数個のアミノ酸の欠失、置換、付加、または挿入といった変異を有するポリペプチド、(6)配列表の配列番号1に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドのN末端第1番目のアミノ酸残基から第521番目のアミノ酸残基までの521個の連続するアミノ酸残基からなるポリペプチドのアミノ酸配列の少なくとも約5個の連続するアミノ酸配列を有し、かつ前記(1)または前記(2)のポリペプチドの脱ユビキチン化活性を阻害するペプチド、(7)前記(1)若しくは前記(2)のポリペプチド、または前記(3)のペプチドをコードするポリヌクレオチドまたはその相補鎖、(8)配列表の配列番号2に記載の塩基配列からなるポリヌクレオチドまたはその相補鎖、(9)配列表の配列番号2に記載の塩基配列からなるポリヌクレオチドまたはその相補鎖の少なくとも約15個の連続する塩基配列からなるポリヌクレオチド、(10)前記(7)から前記(9)のいずれかのポリヌクレオチドまたはその相補鎖とストリンジェントな条件下でハイブリダイゼーションするポリヌクレオチド、(11)前記(4)若しくは前記(5)のポリペプチド、または前記(6)のペプチドをコードするポリヌクレオチドまたはその相補鎖、(12)配列表の配列番号4に記載の塩基配列からなるポリヌクレオチドまたはその相補鎖、(13)前記(7)から前記(12)のいずれかのポリヌクレオチドを含有する組換えベクター、(14)組換えベクターが発現組換えベクターである前記(13)の組換えベクター、(15)前記(13)または前記(14)の組換えベクターを導入されてなる形質転換体、(16)前記(1)、前記(2)、前記(4)若しくは前記(5)のポリペプチド、または前記(3)若しくは前記(6)のペプチドの製造方法であって、前記(14)の組換えベクターを導入されてなる形質転換体を培養する工程、または前記(13)若しくは前記(14)の組換えベクターを利用した無細胞蛋白質合成手段を含む方法、(17)前記(1)、前記(2)、前記(4)若しくは前記(5)のポリペプチド、または前記(3)若しくは前記(6)のペプチドを免疫学的に認識する抗体、(18)

脱ユビキチン化活性を阻害する前記(17)の抗体、(19)前記(1)若しくは前記(2)のポリペプチドと相互作用してその生理活性を阻害する若しくは増強する化合物、および/または前記(7)若しくは前記(8)のポリヌクレオチドと相互作用してその発現を阻害する若しくは促進する化合物の同定方法であって、前記(1)、前記(2)、前記(4)若しくは前記(5)のポリペプチド、前記(3)若しくは前記(6)のペプチド、前記(7)から前記(12)のいずれかのポリヌクレオチド、前記(13)若しくは前記(14)の組換えベクター、前記(15)の形質転換体、および前記(17)若しくは前記(18)の抗体のうちの少なくともいずれか1つを用いることを特徴とする方法、(20)前記(1)若しくは前記(2)のポリペプチドと相互作用してその生理活性を阻害する若しくは増強する化合物、および/または前記(7)若しくは前記(8)のポリヌクレオチドと相互作用してその発現を阻害する若しくは促進する化合物の同定方法であって、化合物と該ポリペプチドまたは該ポリヌクレオチドとの相互作用を可能にする条件下で、該ポリペプチドまたは該ポリヌクレオチドと化合物とを接触させ、次いで、化合物と該ポリペプチドまたは該ポリヌクレオチドとの相互作用により生じるシグナルの存在若しくは不存在または変化を検出することにより、化合物が該ポリペプチドまたはポリヌクレオチドと相互作用して、該ポリペプチドの生理活性または該ポリヌクレオチドの発現を阻害または促進するかどうかを決定する方法、(21)前記(19)または前記(20)の方法で同定された化合物、(22)前記(1)若しくは前記(2)のポリペプチドと相互作用して脱ユビキチン化活性を阻害する若しくは増強する化合物、または前記(7)若しくは前記(8)のポリヌクレオチドと相互作用してその発現を阻害する若しくは促進する化合物、(23)前記(4)若しくは前記(5)のポリペプチドおよび/または前記(6)のペプチドからなる、前記(1)若しくは前記(2)のポリペプチドの拮抗剤、(24)前記(1)、前記(2)、前記(4)または前記(5)のポリペプチド、前記(3)または前記(6)のペプチド、前記(7)から前記(12)のいずれかのポリヌクレオチド、前記(13)または前記(14)の組換えベクター、前記(15)の形質転換体、前記(17)または前記(18)の抗体、前記(21)または前記(22)の化合物、および前記(23)の拮抗剤のうちの少なくともいずれか1つを含有することを特徴とする医薬組成物、(25)前記(1)、前記(2)、前記(4)または前記(5)のポリペプチド、前記(3)または前記(6)のペプチド、前記(7)から前記(12)のいずれかのポリヌクレオチド、前記(13)または前記(14)の組換えベクター、前記(15)の形質転換体、前記(17)または前記(18)の抗体、前記(21)または前記(22)の化合物、および前記(23)の拮抗剤のうちの少なくともいずれか1つを含有することを特徴とする神経変性疾患の防止剤および/または治療剤、(26)前記神経変性疾患がアルツハイマー病および/またはパーキンソン病である前記(25)の神経変性疾患の防止剤および/または治療剤、(27)前記(1)、前記(2)、前記(4)または前記(5)のポリペプチド、前記(3)または前記(6)のペプチド、前記(7)から前記(12)のいずれかのポリヌクレオチド、前記(13)または前記(14)の組換えベクター、前記(15)の形質転換体、前記(17)または前記(18)の抗体、前記(21)または前記(22)の化合物、および前記(23)の拮抗剤のうちの少なくともいずれか1つを含有することを特徴とする筋萎縮症の防止剤および/または治療剤、(28)前記(1)、前記(2)、前記(4)または前記(5)のポリペプチド、または前記(7)、前記(8)、前記(11)若しくは前記(12)のポリヌクレオチドを定量的あるいは定性的に測定する方法、(29)前記(1)、前記(2)、前記(4)または前記(5)のポリペプチド、前記(3)または前記(6)のペプチド、前記(7)から前記(12)のいずれかのポリヌクレオチド、前記(13)または前記(14)の組換えベクター、前記(15)の形質転換体、前記(17)または前記(18)の抗体、および前記(23)の拮抗剤のうちの少なくともいずれか1つを含んでなる試薬キット、からなる。

#### 【0012】

【発明の実施の形態】(新規U.S.P.) 本発明において提供するヒトU.S.P.は、ヒト脳由来長鎖cDNAライブラリーから、プロテアーゼモチーフを有する遺伝子として選出したcDNAクローンb f 04274がコードする蛋白質である。当該U.S.P.は、上記遺伝子を組み込んだ発現プラスミドを導入した大腸菌で発現させて得た。当該U.S.P.は既知U.S.P.とそのアミノ酸配列において、相同性の高いCysドメインおよびHisドメインを保有することを除いて、殆ど相同性を有さない新規U.S.P.である。当該U.S.P.遺伝子は7744塩基からなり(配列表の配列番号2)、そのオープンリーディングフレーム(open reading frame)(ORF)全長は4671塩基、該遺伝子の遺伝子産物は1556アミノ酸残基からなる(配列番号1)。以下、この遺伝子を新規U.S.P.遺伝子、該遺伝子の遺伝子産物を新規U.S.P.と呼ぶ。新規U.S.P.遺伝子のC末端側5618塩基および新規U.S.P.のC末端側977アミノ酸残基は、それぞれKIAA1057(GenBank accession番号:AB028980)の遺伝子およびその遺伝子産物と共通である。

【0013】新規U.S.P.遺伝子は、遺伝子共発現系で人工基質と共に発現させたとき、該人工基質に作用して脱ユビキチン化活性を示した。一方、新規U.S.P.のN末端

から521アミノ酸残基欠失させたもの (KIAA1057-1) と人工基質とをインビトロまたは遺伝子共発現系において反応させたときには、脱ユビキチン化活性は観察されなかった。KIAA1057-1はKIAA1057を含むものである。KIAA1057は、その塩基配列、コードするアミノ酸配列、およびUSPの特徴であるCysドメインおよびHisドメインを有することが既に公開されていた(非特許文献23)。しかし、KIAA1057として公開されているアミノ酸配列を含むKIAA1057-1は脱ユビキチン化活性を示さなかった。すなわち、本発明において新規USPを単離・同定することにより、初めて新規USPが脱ユビキチン化活性を有することを確認でき、酵素活性を有する蛋白質を取得できた。さらに、新規USPには基質選択性があり、人工基質を用いた検討において、アルギニンを介して蛋白質に結合したUbに選択的に作用することを明らかにした。既知USPの中で、このようなUbに選択的に作用するものは知られていない。また、KIAA1057 cDNAが脳、骨格筋、および心臓等で、特に骨格筋で強く発現していることが公開されていることから、新規USP遺伝子も脳および骨格筋等で同様に発現していると考えられる。

【0014】(ポリペプチドまたはペプチド) 本発明に係るポリペプチドは、新規USP遺伝子の遺伝子産物であり、該遺伝子を大腸菌等の細胞で発現させて得られたポリペプチドである。ここで、ポリペプチドとは、ペプチド結合または修飾されたペプチド結合により互いに結合している2個またはそれ以上のアミノ酸を含む任意のペプチドのうち、蛋白質等の長鎖ペプチドを意味し、オリゴペプチドおよびオリゴマーとも称する短鎖ペプチドを単にペプチドという。本明細書においてはアミノ酸を3文字表記または1文字表記することもある。

【0015】本発明に係るポリペプチドの1態様は、配列表の配列番号1に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドである。別の1態様は、配列番号1に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドを含有するポリペプチドである。

【0016】また別の1態様は、配列表の配列番号1に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドと、アミノ酸配列上で約70%以上、好ましくは約80%以上、より好ましくは約90%以上、さらに好ましくは約95%以上の相同性を有するポリペプチドである。より好ましくは、配列表の配列番号1に記載のポリペプチドと同等の活性、例えば脱ユビキチン化活性を有するポリペプチドである。脱ユビキチン化活性は、例えば後述する実施例に示したように、ヒトユビキチンのC末端にグルタチオニ-S-トランスフェラーゼ(GST)をアルギニン、イソロイシン、メチオニン、またはプロリンを介して結合させたものを基質として用い、該基質からユビキチンを解離させ得るか否かを、ユビキチン解離後のGSTを

抗GST抗体によるイムノプロッティング法等の公知の方法で検出することにより測定できる。さらに好ましくは、アルギニンを介してUbが結合した基質に選択的に作用して脱ユビキチン化活性を示すポリペプチドである。アミノ酸配列の相同性を決定する技術は、自体公知であり、例えばアミノ酸配列を直接決定する方法、cDNAの塩基配列を決定後これにコードされるアミノ酸配列を推定する方法等が利用できる。なお、ヒト以外の動物種の相同遺伝子産物も当然本発明の範囲に包含される。

【0017】さらに、このように特定されたポリペプチドを基にして、脱ユビキチン化活性を指標にすることにより、1個以上、例えば1個乃至100個、好ましくは1個乃至30個、より好ましくは1個乃至20個、さらに好ましくは1個乃至10個、特に好ましくは1個乃至数個のアミノ酸の欠失、置換、付加、あるいは挿入といった変異を有するアミノ酸配列からなるポリペプチドも提供される。変異を有するペプチドまたはポリペプチドは天然に存在するものであってよく、あるいは変異を導入したものであってもよい。欠失、置換、付加、挿入等の変異を導入する手段は自体公知であり、例えば、部位特異的変異導入法、遺伝子相同組換え法、プライマー伸長法、またはポリメラーゼ連鎖増幅法(PCR)を単独または適宜組み合わせて、例えばサムブルック等編、「モレキュラーコローニング アラボラトリーマニュアル」、第2版、コールドスプリングハーバーラボラトリープレス、1989年、村松正實編、「ラボマニュアル遺伝子工学」、丸善株式会社、1988年、エールリッヒ編、「ピーシーアール(PCR)テクノロジー」、「DNA増幅の原理と応用」、ストックトンプレス、1989年等の成書に記載の方法に準じて、あるいはそれらの方法を改変して実施することができ、例えばウルマー(Ulmer)の技術(「サイエンス(Science)」、1983年、第219巻、p. 666-)を利用することができる。

【0018】上記のような変異の導入において、当該ポリペプチドの基本的な性質(物性、生理活性、または免疫学的活性等)を変化させないという観点からは、例えば、同族アミノ酸(極性アミノ酸、非極性アミノ酸、疎水性アミノ酸、親水性アミノ酸、陽性荷電アミノ酸、陰性荷電アミノ酸、芳香族アミノ酸等)の間での相互置換は容易に想定される。さらに、これらのペプチドは、その構成アミノ基またはカルボキシル基等を修飾する等、機能の著しい変更を伴わない程度に改変が可能である。

【0019】このように、新規USPが有する生理活性と同等の活性、例えば同等の脱ユビキチン化活性を有するポリペプチドが、本発明において提供できる。それら以外にも、活性の強度または基質特異性を変更したポリペプチドが提供できる。

【0020】さらに、配列表の配列番号1に記載のアミ

ノ酸配列からなるポリペプチドの部分配列を有するポリペプチドまたはペプチドも本発明の範囲に包含される。当該部分配列を有するポリペプチドまたはペプチドは、その最小単位として5個以上のアミノ酸、好ましくは8個以上のアミノ酸、より好ましくは12個以上、さらに好ましくは15個以上の連続するアミノ酸からなるものである。例えば、新規U S Pが有する生理活性の最小活性単位（領域またはドメイン）からなるポリペプチドまたはペプチドも本発明において提供される。上記部分配列を有するポリペプチドまたはペプチドは、新規U S Pまたは新規U S Pと同等の生理活性、例えば脱ユビキチン化活性を有する上記ポリペプチドの活性を調節する物質として、あるいは当該生理活性を調節する物質の同定等に使用する試薬として有用である。

【0021】具体的には例えば、上記部分配列を有するポリペプチドまたはペプチドは、新規U S Pまたは新規U S Pと同等の生理活性、例えば脱ユビキチン化活性を有する上記ポリペプチドの拮抗物質として使用できる。例えば、配列表の配列番号1に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドのN末端第1番目のアミノ酸残基から第521番目のアミノ酸残基までの521個のアミノ酸残基からなるポリペプチド（配列表の配列番号3）は、この部位を欠失させると配列表の配列番号1に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドの脱ユビキチン化活性が消失すること、またユビキチン特異プロテアーゼ（U B P）のN末端側配列が基質認識に関与するという報告（非特許文献15）があることから、新規U S Pの基質認識に関与していると考えられる。基質認識部位を有しているが酵素活性部位を持たないこのようなポリペプチドは、それが由來した酵素の拮抗剤として用いることができる。従って、配列表の配列番号3に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドは、新規U S Pまたは新規U S Pと同等の生理活性を有する上記ポリペプチドの拮抗剤として、それらの生理活性、例えば脱ユビキチン化活性の阻害に使用できる。

【0022】新規U S Pまたは新規U S Pと同等の生理活性を有する上記ポリペプチドの生理活性、例えば脱ユビキチン化活性を阻害するポリペプチドは、配列表の配列番号3に記載のポリペプチドに限定されず、これらポリペプチドの生理活性、例えば脱ユビキチン化活性を阻害できるポリペプチドであればよく、例えば、配列表の配列番号3に記載のポリペプチドとアミノ酸配列上で約70%以上、好ましくは約80%以上、より好ましくは約90%以上、さらに好ましくは約95%以上の相同性を有し、かつ配列番号1に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドまたは該ポリペプチドと同等の生理活性を有する上記ポリペプチドの生理活性、例えば脱ユビキチン化活性を阻害できるポリペプチドが挙げられる。さらに、例えば配列表の配列番号3に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドを基にして、脱ユビキチン化活性の

阻害能を指標にすることにより、1個以上、例えば1個乃至100個、好ましくは1個乃至30個、より好ましくは1個乃至20個、さらに好ましくは1個乃至10個、特に好ましくは1個乃至数個のアミノ酸の欠失、置換、付加、あるいは挿入といった変異を有するアミノ酸配列からなるポリペプチドも提供できる。欠失、置換、付加、あるいは挿入は上記同様の手段が使用できる。

【0023】またさらに、新規U S Pまたは新規U S Pと同等の生理活性を有する上記ポリペプチドの生理活性、例えば脱ユビキチン化活性を阻害するポリペプチドの部分ペプチドであって、当該生理活性、例えば脱ユビキチン化活性を阻害するペプチドも本発明の範囲に含まれる。

【0024】新規U S Pまたは新規U S Pと同等の生理活性を有する上記ポリペプチドの生理活性、例えば脱ユビキチン化活性を阻害するポリペプチドまたはペプチドは、脱ユビキチン化活性を測定する実験系において、脱ユビキチン化活性の阻害を検討することにより得られる。該実験系としては、例えば後述する実施例に示したように、ヒトユビキチンのC末端にグルタチオン-S-トランスフェラーゼ（G S T）をアルギニン、イソロイシン、メチオニン、またはプロリンを介して結合させたものを基質として用い、該基質からユビキチンを解離させ得るか否かを、ユビキチン解離後のG S Tを抗G S T抗体によるイムノプロッティング法等の公知の方法で検出する実験系を使用できる。

【0025】また、上記部分配列を有するポリペプチドまたはペプチドのうち免疫学的に認識され得るペプチドは、例えばエピトープペプチドであれば、後述するように新規U S Pに特異的な抗体を作製するための抗原として単独でまたはキャリア（例えば、キーホールリンペットヘモシアニンまたは卵白アルブミン）と結合して使用できる。

【0026】本発明の範囲には、本発明に係るポリペプチドまたはペプチドに、別種の蛋白質または物質、例えばキャリア等を結合したものも包含される。例えば、本発明に係るポリペプチド等の検出または精製を容易にするために、あるいは別の機能を付加するために、そのN末端側やC末端側に別種の蛋白質またはペプチド、例えばグルタチオン-S-トランスフェラーゼ（G S T）、ルシフェラーゼ、G F P、β-ガラクトシダーゼ、I g G等の免疫グロブリンF c 断片、H i s - t a g 、M y c - t a g 、またはF 1 a g - t a g 等が、直接的にまたはリンカーペプチド等を介して間接的に遺伝子工学的手法等を用いて付加されたものであってもよい。

【0027】（ポリヌクレオチド）本発明は、上記ポリペプチドまたは上記ペプチドをコードするポリヌクレオチドおよびその相補鎖を提供する。例えば、本発明に係るポリヌクレオチドは、配列表の配列番号1に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドをコードするポリヌク

レオチドまたはその相補鎖である。好ましくは、配列表の配列番号2に記載の塩基配列からなるポリヌクレオチドまたはその相補鎖である。さらに本発明に係る配列表の配列番号3に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドまたはその相補鎖、好ましくは配列表の配列番号4に記載の塩基配列からなるポリヌクレオチドまたはその相補鎖も本発明の範囲に含まれる。

【0028】さらに本発明は、上記ポリヌクレオチドまたはその相補鎖、好ましくは配列表の配列番号2に記載の塩基配列からなるポリヌクレオチドまたはその相補鎖の対応する領域にストリンジエントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドを提供する。ハイブリダイゼーションの条件は、例えばサムブルック等編、「モレキュラークローニング ア ラボラトリーマニュアル」、第2版、コールド\_スプリング\_ハーバー\_ラボラトリ\_プレス、1989年等に従うことができる。これらのポリヌクレオチドは目的のポリヌクレオチド、好ましくは配列表の配列番号2に記載の塩基配列からなるポリヌクレオチドまたはその相補鎖にハイブリダイゼーションするものであれば必ずしも相補的配列でなくとも良い。

【0029】また本発明に係るポリヌクレオチドは、上記ポリヌクレオチドの指定された塩基配列領域に対応する連続する10個以上のヌクレオチド、好ましくは15個以上、より好ましくは20個以上の配列からなるポリヌクレオチド若しくはオリゴヌクレオチドまたはそれらの相補鎖を包含する。

【0030】これらのポリヌクレオチドまたはオリゴヌクレオチドは、本発明に係るポリペプチド等の製造に有用な遺伝子情報を提供するものであり、あるいは核酸に関する試薬または標準品としても利用できる。例えば、新規U.S.Pをコードする核酸、例えばその遺伝子またはmRNAの検出のためのプローブまたはプライマーとして、あるいは遺伝子発現を調節するためのアンチセンスオリゴヌクレオチド等として利用できる。その意味で、本発明に係るポリヌクレオチドおよびオリゴヌクレオチドは翻訳領域のみでなく、非翻訳領域に対応するものも包含する。ここで、新規U.S.Pまたは該U.S.Pと同等の生理活性を有する上記ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドの選別は、例えば公知の蛋白質発現系を利用して発現蛋白質の確認を行い、その生理活性、例えば脱ユビキチン化活性を指標にして行うことができる。公知の蛋白質発現系としては、例えば、胚芽または家兎網状赤血球等由来のリボソーム系の技術を利用した無細胞蛋白質発現系（「ネイチャー（Nature）」、1957年、第179巻、p. 160-161）を例示できる。

【0031】（組換えベクター）上記ポリヌクレオチドを適当なベクターDNAに組み込むことにより、組換えベクターが得られる。用いるベクターDNAは、宿主の種類および使用目的により適宜選択される。ベクターD

NAは、天然に存在するものを抽出したもののが、増殖に必要な部分以外のDNAの部分が一部欠落しているものでもよい。例えば、染色体、エピソームおよびウイルス由来のベクター、例えば細菌プラスミド由来、バクテリオファージ由来、トランスポゾン由来、酵母エピソーム由来、挿入エレメント由来、酵母染色体エレメント由来、例えばバキュロウイルス、パボバウイルス、SV40、ワクシニアウイルス、アデノウイルス、鶏痘ウイルス、仮性狂犬病ウイルスおよびレトロウイルス等のウイルス由来のベクター、並びにそれらを組み合わせたベクター、例えばプラスミドおよびバクテリオファージの遺伝学的エレメント由来のベクター、例えばコスミドおよびファージミド等が挙げられる。また、目的により発現ベクターやクローニングベクター等を用いることができる。

【0032】組換えベクターは、目的の遺伝子配列と複製そして制御に関する情報を担持した遺伝子配列、例えばプロモーター、リボソーム結合部位、ターミネーター、シグナル配列、エンハンサー等、とを構成要素とし、これらを自体公知の方法により組み合わせて作製される。前記ベクターDNAに本発明に係るポリヌクレオチドを組み込む方法は、自体公知の方法を適用できる。例えば、適当な制限酵素を選択、処理してDNAを特定部位で切断し、次いで同様に処理したベクターとして用いるDNAと混合し、リガーゼによって再結合する方法が用いられる。あるいは、目的のポリヌクレオチドに適当なリンカーをライゲーションし、これを目的に適したベクターのマルチクローニングサイトへ挿入することによっても、所望の組換えベクターが得られる。

【0033】（形質転換体）上記ポリヌクレオチドが組み込まれたベクターDNAを、自体公知の宿主に自体公知の方法で導入することにより形質転換体が得られる。宿主としては、大腸菌、酵母、枯草菌、昆虫細胞、または動物細胞等が例示できる。遺伝子の導入を行う場合、より好ましい系としては遺伝子の安定性を考慮するならば染色体内へのインテグレート法が挙げられるが、簡便には核外遺伝子を利用した自律複製系を使用できる。ベクターDNAの宿主細胞への導入は、例えば、サムブルック等編、「モレキュラークローニング ア ラボラトリーマニュアル」、第2版、コールド\_スプリング\_ハーバー\_ラボラトリ\_プレス、1989年等に記載されている標準的な方法により行うことができる。具体的には、リン酸カルシウムトランスフェクション、DEAE-デキストラン媒介トランスフェクション、マイクロインジェクション、陽イオン脂質媒介トランスフェクション、エレクトロポレーション、形質導入、スクラーブ負荷（scrape loading）、バリスティック導入（ballistic introduction）、および感染等が挙げられる。

【0034】また、形質転換体に導入するベクターDN

Aとして発現ベクターを使用すれば、本発明に係るポリペプチドまたはペプチドを提供可能である。上記ポリヌクレオチドが組み込まれた発現ベクターDNAを導入した形質転換体は、各宿主の培養条件に最適な条件を選択して培養される。培養は、形質転換体により発現される本発明に係るポリペプチドまたはペプチドの作用、例えば少なくとも脱ユビキチン化活性等、あるいは宿主中で產生されたまたは宿主外に產生された該ポリペプチドまたは該ペプチドの量を指標にして行ってもよいが、培地中の形質転換体量を指標にして継代培養またはバッチ培養を行ってもよい。

【0035】(ポリペプチドまたはペプチドの製造)本発明に係るポリペプチドまたはペプチドは、上記ベクターまたは形質転換体を利用して上記のように遺伝子工学的技術で製造可能である。また、通常のペプチド化学において知られる方法でも製造できる。例えば、「ペプチド合成」、丸善株式会社、1975年や「ペプチドシンテシス( Peptide Synthesis)」、インターライエンス( Interscience)、ニューヨーク( New York)、1996年に記載の方法が例示できるが、無論既知の方法が広く利用可能である。

【0036】本発明に係るポリペプチドまたはペプチドの精製および回収は、その生理活性、例えば少なくとも脱ユビキチン化活性を指標にして、分子篩、イオンカラムクロマトグラフィー、アフィニティクロマトグラフィー等を組み合わせるか、溶解度差に基づく疏安、アルコール等の分画手段によって精製回収できる。好ましくは、回収しようとするポリペプチドまたはペプチドのアミノ酸配列の情報に基づき、これらに特異的なポリクローナル抗体またはモノクローナル抗体を作製し、該抗体を用いて特異的に吸着回収する方法を使用する。

【0037】(抗体)抗体は、上記ポリペプチドまたは上記ペプチドを抗原として用いて作製する。抗原は、上記ポリペプチドまたは上記ペプチド、あるいはそれらの断片でもよく、少なくとも8個、好ましくは少なくとも10個、より好ましくは少なくとも12個、さらに好ましくは15個以上のアミノ酸で構成される。新規USPに特異的な抗体を作製するためには、USPファミリー間の保存領域以外の新規USPに固有なアミノ酸配列からなる領域を用いることが好ましい。抗原として用いるポリペプチドまたはペプチドのアミノ酸配列は、必ずしもポリペプチドまたはペプチド、例えば配列表の配列番号1若しくは配列番号3に記載のアミノ酸配列または該配列中の連続するアミノ酸配列からなる部分配列と相同である必要はなく、蛋白質の立体構造上の外部への露出部位が好ましく、露出部位のアミノ酸配列が一次構造上で不連続であっても、該露出部位について連続的なアミノ酸配列であればよい。抗体は、免疫学的に新規USPまたはその由来物からなるペプチドまたはポリペプチド

を、結合または認識する限り特に限定されない。この結合または認識の有無は、公知の抗原抗体結合反応によって決定される。

【0038】抗体を產生するためには、自体公知の抗体作製法を利用できる。例えば、本発明に係るポリペプチドまたはペプチドを、アジュバントの存在下または非存在下に、単独でまたは担体に結合して動物に投与し、体液性応答および/または細胞性応答等の免疫誘導を行うことにより得られる。担体は、それ自体が宿主に対して有害な作用を及ぼさずかつ抗原性を増強せしめるものであれば特に限定されず、例えばセルロース、重合アミノ酸、アルブミン、キーホールリンペットヘモシアニン(KLH)等が例示される。アジュバントとしては、フロイント完全アジュバント(FCA)、フロイント不完全アジュバント(FIA)、Ribi(MPL)、Ribi(TDM)、Ribi(MPL+TDM)、百日咳ワクチン(Bordetella pertussis vaccine)、ムラミルジペプチド(MDP)、アルミニウムアジュバント(ALUM)、およびこれらの組み合わせが例示される。免疫される動物は、マウス、ラット、ウサギ、ヤギ、ウマ等が好適に用いられる。

【0039】ポリクローナル抗体は、上記免疫手段を施された動物の血清から自体公知の抗体回収法によって取得される。好ましい手段として免疫アフィニティクロマトグラフィー法により得られる。

【0040】モノクローナル抗体を生産するためには、上記の免疫手段が施された動物から抗体產生細胞(例えば、脾臓またはリンパ節由来のリンパ球)を回収し、自体公知の永久増殖性細胞(例えば、P3-X63-Ag8株等のミエローマ株)への形質転換手段を導入することによって行われる。例えば、抗体產生細胞と永久増殖性細胞とを自体公知の方法で融合させてハイブリドーマを作製してこれをクローン化し、上記ポリペプチドまたは上記ペプチドを特異的に認識する抗体を產生するハイブリドーマを選別し、該ハイブリドーマの培養液から抗体を回収する。

【0041】かくして得られた上記ポリペプチドまたは上記ペプチドを認識して結合するポリクローナル抗体またはモノクローナル抗体は、上記ポリペプチドまたは上記ペプチドの、精製用抗体、試薬、または標識マーカー等として利用できる。例えば、上記ポリペプチドまたは上記ペプチドを認識して結合するポリクローナル抗体またはモノクローナル抗体のうち、直接本発明に係る新規USPに結合してその脱ユビキチン化活性を阻害する抗体は、USPの異常に起因する各種疾患の解明、防止および/または治療に有用である。

【0042】(スクリーニング)本発明に係るポリペプチドまたはペプチド、本発明に係るポリヌクレオチドまたはその相補鎖、該ポリヌクレオチドまたはその相補鎖

を組み込んだベクター、該ベクターを導入してなる形質転換体、これらを用いる蛋白質発現系、並びに該ペリペプチドまたは該ペプチドを免疫学的に認識する抗体は、単独または複数を組み合わせることによって、新規U S Pまたは該U S Pと同等の生理活性を有する上記ペリペプチドの活性阻害剤または活性増強剤の同定に有効な方法を提供する。また、これらは、新規U S Pまたは該U S Pと同等の生理活性を有する上記ペリペプチドをコードするペリヌクレオチドの発現阻害剤または発現促進剤の同定に有効な方法を提供する。該方法は、自体公知の医薬品スクリーニングシステムを利用して構築可能である。本発明の同定方法によれば、例えば、新規U S Pまたは該U S Pと同等の生理活性を有する上記ペリペプチドの立体構造に基づくドラッグデザインによる拮抗剤の選別、蛋白質合成系を利用した遺伝子レベルでの発現調整剤の選別、抗体を利用した抗体認識物質の選別等が可能である。

【0043】 例えば、本発明に係るペリペプチドまたはペプチドを用いて、被検化合物とこれらペリペプチドまたはペプチドとの間の相互作用を可能にする条件を選択し、該条件下でこれらペリペプチドまたはペプチドと該化合物とを接触させて、その相互作用により生じるシグナルの存在若しくは不存在または変化を検出することにより、新規U S Pまたは該U S Pと同等の生理活性を有する上記ペリペプチドの生理活性、例えば脱ユビキチン化活性を増強する化合物または阻害する化合物を同定可能である。

【0044】 また、新規U S Pまたは該U S Pと同等の生理活性を有する上記ペリペプチドをコードするペリヌクレオチドと被検化合物との間の相互作用を可能にする条件を選択し、該条件下で該ペリヌクレオチドと該化合物とを接触させて、その相互作用により生じるシグナルの存在若しくは不存在または変化を検出することにより、該ペリヌクレオチドに結合する化合物を同定可能である。

【0045】 さらにまた、本発明に係る形質転換体を用いて、被検化合物または上記同定された化合物とを適当な条件下で接触させ、本発明に係る新規U S Pまたは該U S Pと同等の生理活性を有する上記ペリペプチドの発現の有無または変化を検出することにより、これらペリペプチドの発現を阻害する化合物または促進する化合物を同定可能である。これらペリペプチドの発現の有無または変化の検出は、簡便には、発現されるペリペプチドの生理活性、例えば脱ユビキチン化活性を指標にして実施できる。脱ユビキチン化活性の測定は、例えば人工基質U b-R-G S Tの分解により生じるG S Tの測定により可能である。このような同定方法においては、これらペリペプチドの生理活性、例えば脱ユビキチン化活性を阻害する化合物または増強する化合物も同定できる。あるいは、新規U S Pの発現の有無または変化を検出す

るためには、検出のためのシグナルまたはマーカーを使用する自体公知の系を導入し、このシグナルまたはマーカーの存在若しくは不存在または変化を検出してもよい。ここでシグナルとは、そのもの自体がその物理的または化学的性質により直接検出され得るもの指し、マーカーとはそのものの物理的または生物学的性質を指標として間接的に検出され得るもの指す。シグナルとしてはルシフェラーゼやグリーン蛍光蛋白質(G F P)等、マーカーとしては、レポーター遺伝子、例えばクロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ(C A T)遺伝子等、または検出用のタグ、例えば6×H i sタグ等、公知のものが利用できる。これらのシグナルまたはマーカーを組み込んだベクターを作製し、該ベクターを宿主細胞に導入して形質転換体を作製すればよい。これらのシグナルまたはマーカーの検出方法は、当業者には周知のものである。

【0046】 具体的には、例えば、後述する実施例に準じて、新規U S Pと基質とを例えば大腸菌で共遺伝子発現させて該U S Pの脱ユビキチン化活性を測定する実験系において、ここに被検化合物を加えることにより、該U S Pの発現または生理活性を阻害する、促進する、または増強する化合物を同定できる。この実験系は、同定方法の1つを説明するものであり、本発明に係る化合物の同定方法はこれに限定されない。

【0047】 (化合物) 上記方法により同定された化合物は、新規U S Pまたは該U S Pと同等の生理活性を有する上記ペリペプチドの活性、例えば脱ユビキチン化活性の阻害剤、拮抗剤、または増強剤の候補化合物として利用可能である。また、遺伝子レベルでの新規U S Pまたは該U S Pと同等の生理活性を有する上記ペリペプチドの発現に関する阻害剤または促進剤の候補化合物としても利用可能である。これらの候補化合物は、新規U S Pまたは該U S Pと同等の生理活性を有する上記ペリペプチドの発現や生理活性、例えば脱ユビキチン化活性の増加、減少または欠失等に起因する各種病的状況の防止効果および/または治療効果を期待できる。後述するように、U S Pと神経変性疾患や筋萎縮症との関連が報告されていることから(非特許文献22)、これらの疾患の防止剤および/または治療剤として使用できる。

【0048】 (医薬組成物) かくして選別された候補化合物は、生物学的有用性と毒性のバランスを考慮してさらに選別することにより、医薬組成物として調製可能である。また本発明に係る新規U S Pおよびその由来物からなるペリペプチドまたはペプチド、本発明に係るペリヌクレオチドまたはその相補鎖、該ペリヌクレオチドまたはその相補鎖を含むベクター、並びに新規U S Pおよびその由来物からなるペリペプチドまたはペプチドを免疫学的に認識する抗体は、それ自体を新規U S Pまたは該U S Pと同等の生理活性を有する上記ペリペプチドの発現や生理活性、例えば脱ユビキチン化活性の増加、減

少または欠失等に起因する各種病的症状の防止および／または治療に使用できる。すなわち本発明は、これらを単独または複数組み合わせて使用することにより、これらのうち少なくとも1つを含有する医薬組成物を提供する。なお、製剤化に当たっては、自体公知のポリペプチド、ペプチド、蛋白質、ポリヌクレオチド、抗体等各対象に応じた製剤化手段を導入すればよい。

【0049】本発明に係る新規U.S.P.または該U.S.P.と同等の生理活性を有する上記ポリペプチドの発現および／またはその生理活性の減少や欠失等に起因する異常な症状の治療には、1つの方法として当該U.S.P.自体または当該U.S.P.と同等の生理活性を有する上記ポリペプチドの生理活性を増強する化合物（増強剤）および／または当該U.S.P.をコードする遺伝子の発現を促進する治療上有効量の化合物（促進剤）を医薬上許容される担体とともに投与し、そのことにより異常な症状を改善することを特徴とする方法が挙げられる。あるいは、遺伝子治療を用いて、対象中の細胞内で新規U.S.P.または該U.S.P.と同等の生理活性を有する上記ポリペプチドの活性を生成なさしめてもよい。上記ポリヌクレオチドを利用した遺伝子治療は、公知の方法が利用できるが、例えば、上記のごとく本発明に係るポリヌクレオチドを組み入れた複製欠損レトロウイルスベクターを作製して遺伝子治療に利用すればよい。また、例えば、蛋白質をコードしているDNAまたはRNAを用いて、例えばレトロウイルスプラスミドベクターを用いることによりエクスピボ（ex vivo）において対象由来の細胞を処理し、次いで、細胞を対象に導入することもできる。

【0050】本発明に係る新規U.S.P.または該U.S.P.と同等の生理活性を有する上記ポリペプチドの発現および／またはその生理活性が過剰な場合、有効量の上記阻害剤化合物を医薬上許容される担体とともに対象に投与して新規U.S.P.または該U.S.P.と同等の生理活性を有する上記ポリペプチドの生理活性を阻害し、そのことにより異常な症状を改善することもできる。例えば新規U.S.P.の部分ポリペプチドまたはペプチドであって新規U.S.P.の生理活性、例えば脱ユビキチン化活性を阻害するものを、新規U.S.P.の拮抗剤として使用できる。具体的には、例えば配列番号3に記載のポリペプチドを医薬上許容される担体とともに対象に投与することにより、新規U.S.P.の生理活性を阻害できる。あるいは、新規U.S.P.の部分ポリペプチドまたはペプチドであって新規U.S.P.の生理活性、例えば脱ユビキチン化活性を阻害するもの、例えば配列番号3に記載のポリペプチドを、該ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを用いて遺伝子治療により、上記のように対象中の細胞内で生成なさしめてもよい。これにより新規U.S.P.または新規U.S.P.と同等の生理活性を有する上記ポリペプチドの発現および／またはその生理活性の過剰に起因する疾患を防止および／または治療できる。該拮抗剤は、上記医薬組

成物の一成分として使用することもできる。

【0051】さらに、発現ブロック法を用いて内在性の新規U.S.P.または該U.S.P.と同等の生理活性を有する上記ポリペプチドをコードしている遺伝子の発現を阻害してもよい。細胞内で生成させた、あるいは別個に投与された当該遺伝子のアンチセンス配列を使用して当該遺伝子の発現を阻害できる。これらのオリゴヌクレオチドは、上記本発明に係るポリヌクレオチドを基にして設計し合成できる。当該オリゴヌクレオチドはそれ自体投与することができ、あるいは関連オリゴマーをインビボで発現させることもできる。

【0052】投与形態は、全身投与であっても局所投与であってもよい。全身投与の好ましい一態様は、注射、例えば静脈注射が挙げられる。皮下、筋肉内または腹腔内のような他の注射経路を用いることもできる。投与の別の態様は、腸溶処方またはカプセル処方がうまく処方されるならば、経口投与も可能である。さらに、胆汁酸塩、フシジン酸、または他の界面活性剤のような浸透剤を用いる経粘膜または経皮投与を用いることもできる。局所的な投与のときは、膏薬、パスタ、ゲル等の形態を利用できる。

【0053】必要な用量範囲は、新規U.S.P.およびその由来物からなるポリペプチドまたはペプチド、これらをコードするポリヌクレオチドまたはその相補鎖、該ポリヌクレオチドまたはその相補鎖を含むベクター、新規U.S.P.およびその由来物からなるポリペプチドまたはペプチドを免疫学的に認識する抗体、上記化合物、上記拮抗剤、および上記医薬組成物の有効性、投与経路、処方の性質、対象の症状の性質、および担当医師の判断による。具体的には、適当な用量は、例えば対象の体重1kgあたり0.1乃至100μgの範囲である。しかしながら、当該分野においてよく知られた最適化のため的一般的な常套的実験を用いてこれらの用量の変更を行うことができる。

【0054】製剤化にあたっては、例えばペプチド、蛋白質、オリゴヌクレオチド、ポリヌクレオチド、抗体、化合物等各対象の物性に応じた公知の製剤化手段を導入すればよい。具体的には、例えば散剤、丸剤、錠剤、カプセル製剤、水溶液製剤、エタノール溶液製剤、リポソーム製剤、脂肪乳剤、シクロデキストリン等の包接体等の製剤化方法が利用できる。

【0055】散剤、丸剤、カプセル剤および錠剤は、ラクトース、グルコース、シュークロース、マンニトール等の賦形剤、澱粉、アルギン酸ソーダ等の崩壊剤、マグネシウムステアレート、タルク等の滑潤剤、ポリビニルアルコール、ヒドロキシプロピルセルロース、ゼラチン等の結合剤、脂肪酸エステル等の界面活性剤、グリセリン等の可塑剤等を用いて製造できる。錠剤やカプセルを製造するには、固体の医薬担体が用いられる。

【0056】懸濁剤は、水、シュークロース、ソルビト

ール、フラクトース等の糖類、PEG等のグリコール類、油類を使用して製造できる。

【0057】注射用の溶液は、塩溶液、グルコース溶液、または塩水とグルコース溶液の混合物からなる担体を用いて調製可能である。

【0058】リポソーム化は、例えばリン脂質を有機溶媒（クロロホルム等）に溶解した溶液に、当該物質を溶媒（エタノール等）に溶解した溶液を加えた後、溶媒を留去し、これにリン酸緩衝液を加え、振とう、超音波処理および遠心処理した後、上清をろ過処理して回収することにより行い得る。

【0059】脂肪乳剤化は、例えば当該物質、油成分（大豆油、ゴマ油、オリーブ油等の植物油、MCT等）、乳化剤（リン脂質等）等を混合、加熱して溶液とした後に、必要量の水を加え、乳化機（ホモジナイザー、例えば高圧噴射型や超音波型等）を用いて、乳化・均質化処理して行い得る。また、これを凍結乾燥化することも可能である。なお、脂肪乳剤化するとき、乳化助剤を添加してもよく、乳化助剤としては、例えばグリセリンや糖類（例えばブドウ糖、ソルビトール、果糖等）が例示される。

【0060】シクロデキストリン包接化は、例えば当該物質を溶媒（エタノール等）に溶解した溶液に、シクロデキストリンを水等に加温溶解した溶液を加えた後、冷却して析出した沈殿をろ過し、滅菌乾燥することにより行い得る。この際、使用されるシクロデキストリンは、当該物質の大きさに応じて、空隙直徑の異なるシクロデキストリン（ $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ 型）を適宜選択すればよい。

【0061】USPの発現や生理活性の増加、減少、または欠失等の機能障害は、USPが係るユビキチンシステムの異常をきたし、ひいては病的状態を引き起こす。例えば、USPの異常と発癌や神経変性疾患との関連が示唆されている（非特許文献17～19）。USPは染色体構造の維持にも関与しており、ユビキチン化されたヒストンの脱ユビキチン化が染色体凝集に重要であることが知られている（非特許文献20）し、USPファミリーの1つであるUSP16がH2Aを脱ユビキチン化することが報告されている（非特許文献21）。また、アルツハイマー病やパーキンソン病で観察される蛋白質凝集体の多くが抗ユビキチン抗体に反応することからも（非特許文献17）、神経変性疾患とUSPの機能異常の関係が示唆される。また、ユビキチン経路が筋萎縮症と関連していることについても報告されている（非特許文献22）。上記本発明に係るUSPは、脳および骨格筋、特に骨格筋での発現が比較的高く、当該USPが神経変性疾患や筋萎縮症と関連している可能性が高い。従って、本発明は、USPの関与する生体機能の解明、例えば発癌プロセスの解明、神経変性疾患、例えばアルツハイマー病やパーキンソン病等の解明、および筋萎縮症の解明、並びにそれらの防止剤および／または治

療剤の開発、およびそれらの診断手段として用いる測定法の開発を可能とするものであり、非常に有用である。

【0062】（診断のための測定方法および試薬）本発明に係る新規USPおよびその由来物からなるポリペプチドまたはペプチド、本発明に係るポリヌクレオチドおよびその相補鎖、並びに当該USPおよびその由来物からなるポリペプチドまたはペプチドを免疫学的に認識する抗体は、診断マーカーや試薬等として、本発明に係る新規USPおよびその由来物であるポリペプチド、またはこれらをコードするポリヌクレオチドを定量的にまたは定性的に測定する方法に使用できる。また本発明は、これらのうちの1種またはそれ以上を充填した、1個またはそれ以上の容器を含んでなる試薬キットも提供する。当該試薬キットは、上記同定方法および上記測定方法に使用できる。製剤化にあたっては、自体公知のポリペプチドまたはペプチド、蛋白質、ポリヌクレオチド、または抗体等それに応じた製剤化手段を導入すればよい。上記測定方法によれば、新規USPの発現や活性の増加、減少または欠失等が関連する各種病的状態診断が可能になる。

【0063】本発明に係る新規USPおよびその由来物からなるペプチドまたはポリペプチドの発現または生理活性の異常に起因する疾患の診断手段は、例えば当該USPをコードしている核酸との相互作用や反応性を利用して、相応する核酸の存在量を決定すること、および／または当該USPについて個体中の生体内分布を決定すること、および／または当該USPの存在、個体由来の試料中の存在量を決定することによって行われる。詳しくは、新規USPを診断マーカーとして検定するのである。試料中の当該USPの検出またはその存在量の決定に用いることができる測定法は当業者に周知である。このような測定法には、ラジオイムノアッセイ、競争結合アッセイ、ウェスタンプロット分析、およびELISAアッセイ等がある。また、本発明に係る新規USPをコードするポリヌクレオチドの検出法および定量法としては、例えば増幅、PCR、RT-PCR、RNアーゼ保護、ノーザンプロッティング、およびその他のハイブリダイゼーション法を用いてRNAレベルで測定することができる。

【0064】測定される試料として、個体由来の細胞、例えば血液、尿、唾液、髄液、組織生検または剖検材料等を挙げることができる。また、測定される核酸は、上記各試料から自体公知の核酸調製法により得られる。核酸は、ゲノムDNAを検出に直接使用してもよく、あるいは分析前にPCRまたはその他の増幅法を用いることにより酵素的に増幅してもよい。RNAまたはcDNAを同様に用いてもよい。正常遺伝子型との比較において、増幅生成物のサイズ変化により欠失および挿入を検出することができる。増幅DNAを標識した上記USPをコードするDNAにハイブリダイゼーションさせるこ

とにより点突然変異を同定することができる。

【0065】上記測定により本発明に係るUSPおよび該USPをコードするDNAの変異、減少、または増加を検出することにより、当該USPの異常に起因する疾患、例えば、癌あるいは神経変性疾患等、例えばアルツハイマー病やパーキンソン病等の診断が可能になる。

【0066】

【実施例】以下、実施例を挙げて本発明をより具体的に説明するが、本発明は下記の実施例に限定されない。

【実施例1】(新規USP遺伝子の単離・同定) 本発明に係るUSP遺伝子は、かずきDNA研究所のヒト長鎖cDNA解析情報データベースから、バイオインフォマティクス(bioinformatics)により、新規プロテアーゼ候補遺伝子として抽出した。本遺伝子の3'末端領域の塩基配列はcDNAクローンKIAA1057(GenBankアクセション番号:AB028980)と共に通の配列であった。cDNAクローンKIAA1057は、977個のアミノ酸をコードする領域を含む5618bpを含有するクローンであり、USPに特徴的なモチーフであるCysドメイン(Cys-box)(G-[LIVMFY]-x(1,3)-[AGC]-[NASM]-x-C-[FYW]-[LIVMFC]-[NST]-[SACV]-x-[LVMS]-Q)とHisドメイン(His-box)(Y-x-L-x-[SAG]-[LIVMFT]-x(2)-H-x-G-x(4,5)-G-H-Y)およびアスパラギン酸(Asp)ドメインを有する。本発明に係る遺伝子は、Cysドメイン内において既知の当該ドメイン配列と一致していないアミノ酸残基が1つ存在する。

【0067】cDNAクローンKIAA1057はそのORF内の5'末端領域が欠失してクローニングされていると推定されたため、KIAA1057の塩基配列を基に、さらに上記データベースを検索した。その結果、KIAA1057の塩基配列を含むcDNAクローンbf04274を見い出した。

【0068】bf04274は7744bpからなるcDNAである。その塩基配列の第389位～第391位に存在する最初のATGは、その直前にコザックのコンセンサス配列を持つことから、翻訳開始コドンと予測された。すなわち、bf04274は、1556個のアミノ酸残基からなるポリペプチドをコードする翻訳領域(CDS)をその塩基配列の第389位～第5059位に含む。bf04274の塩基配列を配列表の配列番号2に、bf04274がコードするアミノ酸配列を配列番号1に記載した。KIAA1057はbf04274の塩基配列のうち第2124位から第7741位までの塩基配列に相当し、KIAA1057の推定アミノ酸配列は、bf04274がコードするアミノ酸配列の第580番目から第1556番目のアミノ酸配列に相当す

る。Cys-boxおよびHis-boxは、bf04274がコードするアミノ酸配列の第626番目～第641番目および第890番目～第907番目のアミノ酸配列に存在する。

【0069】

【実施例2】(新規USPの発現) 実施例1で単離・同定した新規USPをコードするcDNAクローンbf04274発現プラスミドをゲイトウェイ™\_クローニング\_テクノロジー(Life Technologies社)を用いて作製した。まず、bf04274クローン(pBC SK<sup>+</sup>のHindIII-SacI部位に挿入)を鋳型として、アドバンテージ-HF2-PCRキット(Clontech社)あるいはExpand\_high-fidelity-PCR\_system(Roche社)を用いて推定CDS領域(配列番号2に記載の塩基配列の第389位～第5059位)を2段階PCRで増幅した後、BPクロナーゼエンザイム(BP clonase enzyme)を用いた組換え反応によりエントリーベクター(pDONR201)に挿入し、pDONR-bf04274を作製した。なお、プライマーは、1段階目のPCR用にbf04274-AttB(配列番号5)とpDONR1057(ー)(配列番号6)とを、2段階目のPCR用にAttB1アダプター-プライマー(配列番号7)と上記pDONR1057(ー)とを使用した。次に、pDONR-bf04274とN-末端His-タグ付加蛋白質(N-terminal His-tagged protein)発現用ベクターであるpDEST17とを用いて、LRクロナーゼエンザイムによる組換え反応によりHis-タグ付加bf04274発現プラスミド(pHis-04274)を作製した。発現プラスミドは、NacIにより発現誘導が可能なE. coli BL21-SI(Life Technologies社)に導入した。CDSの塩基配列が正しく挿入されていることは、シーケンスを行なって確認した。シーケンス反応はビッグダイ\_ターミネーター\_サイクル\_シーケンシング\_FS\_レディ\_リアクション\_キット(BigDye Terminator Cycle Sequencing FS Ready Reaction Kit(PE biosystems社)を用い、泳動および解析はABI PRISM310を用いて実施した。

【0070】上記作製した発現プラスミドを用いて大腸菌でbf04274の発現誘導を行った。LBON/Amp培地(50mg/mlのアンピシリンを含み、NacIを含まないLB培地)に1/10量の大腸菌前培養液を接種し、37°CにてOD<sub>600</sub>が約1.0前後になるまで培養後、NacIを終濃度0.3Mになるように添加した。さらに約4～5時間培養後、菌体を回収した。菌体をリン酸緩衝生理食塩水(PBS)に懸濁した

後に超音波処理し、遠心処理により上清を回収して抽出液とした。該抽出液を10%SDS-PAGEにより分離後、抗His-タグ抗体 (Penta-His<sup>TM</sup> 抗体、QIAGEN社) を用いてイムノブロッティングを行った。その結果、推定アミノ酸配列から予測される分子量と同じ分子量の蛋白質 (186.8 kDa) を検出した。発現蛋白質はその多くが不溶性画分に認められ、可溶性画分への分布は少量であった。なお、検出にはECLウエスタンブロッティング検出キット (western blotting detection kit) (Amersham pharmacia biotech社) を使用した。

## 【0071】

【実施例3】(bf04274の脱ユビキチン化活性) bf04274がコードする蛋白質について、基質との共発現系で、その脱ユビキチン化活性を検討した。この実験系は、酵素発現用プラスミドが有するpBR322系のoriとコンパティビリティを示すp15Aのoriを有する基質発現用プラスミドを使用することにより、酵素と基質を同一菌体内で共発現させるものである (「アーチーブス オブ バイオケミストリー アンド バイオフィジックス (Archives of Biochemistry And Biophysics)」, 2000年, 第379巻, p. 198-).

【0072】まず、共発現用の各種基質発現プラスミドを構築した。基質は、ヒトユビキチンのC末端にグルタチオン-S-トランスフェラーゼ (GST) を結合させた人工基質Ub-GSTを用いた。pTV118N/Ub-GSTを鋳型としてUb-GSTコード領域をPCRにより増幅させた後、ゲートウェイ<sup>TM</sup>-クローニング\_テクノロジーを用いて大腸菌発現用ベクター、pDEST14に挿入し、pDEST14Ub-GSTを作製した。次に、pDEST14Ub-GSTからT7プロモーターおよびUb-GSTコード領域を含む領域をSphIおよびHindIII処理により切り出し、p15A由来のoriを持つpACYC184 (ニッポンジーン社) のSphI-HindIII間に組み込み、pACUb-M-GSTを作製した。これを共発現用Ub-M-GST発現プラスミドとした。次に、pACUb-M-GSTをSalIおよびHindIIIで処理し、T7プロモーターおよびUb-GSTコード領域を含む領域をpBluescriptII SK (-) (Stratagene社) のSalI-HindIII間に組み込み、pBSUBGSTを作製した。さらに、pBSUBGSTを鋳型として、クイックエンジニアード・サイト-ディレクティド\_ミュータジエネシス\_キット (QuikChange Site-Directed Mutagenesis Kit) (Stratagene社) を用いてGSTのN末端のアミノ酸に対応するコドンをATG (メチオニン: M) から、CCG

(プロリン: P) 、ATC (イソロイシン: I) 、またはCGT (アルギニン: R) に変換したpBSUB-P-GST、pBSUB-I-GST、またはpBSUB-R-GSTを作製した。コドンの変換は、シーケンシングにより確認した。以下、Ub-M-GST、Ub-R-GST、Ub-P-GST、およびUb-I-GSTを総称するときは、Ub-X-GSTという。次に、各pBSUB-X-GSTをHindIIIおよびSphIで処理し、T7プロモーターおよびUb-X-GSTコード領域を含む領域をpACYC184のHindIII-SphI間に組み込み、各共発現用Ub-X-GST発現プラスミド、pACUb-X-GSTを作製した。作製した4種類のpACUb-X-GSTはE. coli BL21-SIに導入し、塩化カルシウム法によりコンピテントセル化した。

【0073】各pACUb-X-GSTをそれぞれ保持するE. coli BL21-SIコンピテントセルに、実施例2で作製したプラスミドpHis-04274を遺伝子導入した。このとき、一部のコンピテントセルには、pHis-04274の代わりに、陽性コントロールとして既知ユビキチン特異プロテアーゼ15 (以下、USP15と略称する) cDNA (KIAA0529クローン) を鋳型として実施例2に記載の方法で作製したHis-タグ付加USP15発現プラスミド (pHis-USP15) 、または陰性コントロールとしてHis-タグ付加ルシフェラーゼ (Luc) 発現プラスミド (pHis-Luc) をそれぞれ遺伝子導入した。該遺伝子導入されたコンピテントセルを、50 mg/m1 アンピシリンおよび34 mg/m1 クロラムフェニコールを含むLBON (NaClを含まないLB培地) プレート上にて培養し、各種共発現株を選択して得た。なお、pHis-USP15の作製において、KIAA0529はUSP15のN末端3アミノ酸残基 (MAE) が欠失していたため、ベイカーらの方法に従い (「ゲノミクス (Genomics)」, 1999年, 第59巻, p. 264-) 、この3アミノ酸残基に対応するコドンをプライマー内に設計し、完全なCDSとした。また、pHis-Lucは、pGLO-Lucベクター (Promega社) を鋳型として、実施例2と同様にゲートウェイ<sup>TM</sup>-クローニング\_テクノロジーを用いて作製した。

【0074】上記各種共発現株を50 mg/m1 アンピシリンおよび34 mg/m1 クロラムフェニコールを含むLBON培地中でOD<sub>600</sub> が約0.5~1.2になるまで37°Cにて培養後、NaClを終濃度0.3Mになるように添加した。さらに約4または5時間培養後、菌体を回収した。該菌体を培養液の1/10量の50 mM Tris-HCl, pH 7.6/5 mM エチレンジアミン四酢酸 (EDTA) /1 mM ジチオスレートール (DTT) に懸濁後、超音波処理により破壊し、遠

心処理により上清を回収して大腸菌抽出液を調製した。該抽出液を15%SDS-PAGEにより分離し、1次抗体として抗GST抗体(Amersham pharma biotech社)、2次抗体としてホースラディッシュ\_ペーオキシダーゼ(HRP)標識抗ヤギ抗体(Alpha diagnostic international社)を用いてイムノブロッティングを行い、Ub-X-GSTおよび遊離したGSTを検出した。なお、検出はECLウエスタンブロッティング検出キットを使用した。

【0075】その結果、図1に示すように、プラスミドpHis-04274とUb-R-GSTと共に発現させた大腸菌から調製した抽出液では、Ub-R-GST以外に、Ub-R-GSTからUbが加水分解されて生じたGSTが検出された。しかし、Ub-M-GST、Ub-P-GST、またはUb-I-GSTとの共発現系では、GSTが検出されなかった。一方、陽性コントロールであるUSP15を、bf04274の代わりに基質と共に発現させたときには上記4種類の基質のいずれに対しても脱ユビキチン化活性が認められたが、陰性コントロールであるルシフェラーゼでは認められなかった。

【0076】このようにプラスミドpHis-04274により発現された蛋白質は、Ubがアルギニン(R)残基を介して蛋白質に結合している人工基質に対して基質選択性を示した。既知USPについて同様に基質選択性を検討したが、Ub-R-GSTに対する基質選択性を示すものは、本発明に係る新規USPのみであった。Ub-GSTは、Ubが蛋白質(GST)とペプチド結合していることから、前駆体Ubモデルと考えられる。bf-04274がコードする蛋白質は、Ub-GSTを基質としてUbを解離するため、生体内において前駆体UbからのUb生成に関与している可能性がある。

#### 【0077】

【実施例4】(bf-04274がコードする蛋白質の酵素活性部位の特定) USPはシステインプロテアーゼの1つであり、Cys-box内に存在するシステイン残基が活性部位であると考えられている。そこで、bf-04274がコードする蛋白質の推定活性残基である第634番目のシステイン(C)をセリン(S)に置換した変異体(bf04274<sup>C634S</sup>)を作製した。まず、第634番目のシステインをクイックチェンジ\_サイトーディレクティド\_ミュータジェネシス\_キットを用いてセリンに置換した。使用したプライマーは、第634番目のシステインのコドンであるTGTがセリンのコドンであるTCTに置換するように設計した(配列番号8)。変異の導入をシーケンシングにて確認し、His-タグ付加bf04274<sup>C634S</sup>発現プラスミド、pHis-04274Mutを得た。シーケンス反応はCys5\_サーモシーケナーゼ\_ダイ\_サーミネータ

\_キット(ThermoSequenase Dye Terminator Kit)を用い、泳動および解析はロング\_リード\_タワー(Long Read Tower)(いずれもAmersham pharma biotech社)を用いて実施した。

【0078】pHis-04274Mut、実施例2または実施例3で作製したpHis-04274、pHis-USP15、あるいはpHis-Lucをそれぞれ、実施例3と同様にpACUb-R-GSTと共に大腸菌で共発現させた。その結果、図2に示すように、bf04274を発現させたときに認められたUb-R-GSTに対する脱ユビキチン化活性が、bf04274<sup>C634S</sup>においては消失していることが判明した。すなわち、bf04274がコードする蛋白質は、第634番目のシステイン残基を活性部位とするシステインプロテアーゼであることが確認された。

#### 【0079】

【実施例5】(KIAA1057-1がコードする遺伝子産物の脱ユビキチン化活性の検討) bf04274のN末端側を521アミノ酸残基(配列番号3)欠失させたポリペプチドをコードするKIAA1057-1を含むプラスミドを実施例2と同様の方法で作製し、実施例3と同様の方法で基質と共に大腸菌で共発現させてその脱ユビキチン化活性を検討した。その結果、KIAA1057-1は、USPファミリーの特徴であるCys-BoxおよびHis-Boxを保有しているが、4種類の人工基質それぞれとの共発現系において、脱ユビキチン化活性を示さなかった(図3)。以上の結果から、bf04274がコードする蛋白質のN末端側には、文献(非特許文献15)に記載されたUSPと同様に、基質の認識に関与する部位が存在すると考えられる。

#### 【0080】

【発明の効果】かずさDNA研究所のヒト長鎖cDNA解析情報データベースから、バイオインフォマティクス(bioinformatics)により、新規プロテアーゼ候補遺伝子としてbf04274を抽出し、本遺伝子の遺伝子産物がユビキチン化蛋白質を脱ユビキチン化するユビキチン特異プロテアーゼ(USP)の1つであることを見い出した。さらに、本発明に係るUSPは、N末端から521アミノ酸残基を欠失させると脱ユビキチン化活性が消失することを見い出した。本発明は、USPの関与する生体機能の解明、例えば、発癌プロセスの解明、筋萎縮症、および神経変性疾患、例えばアルツハイマー病やパーキンソン病等の解明、並びにそれらの防止、治療、および診断を可能にするものであり、非常に有用である。

#### 【0081】

##### 【配列表フリーテキスト】

配列番号5:プライマーとして用いるために設計されたオリゴヌクレオチド。

配列番号6：プライマーとして用いるために設計されたオリゴヌクレオチド。

配列番号7：プライマーとして用いるために設計されたオリゴヌクレオチド。

配列番号8：プライマーとして用いるために設計されたオリゴヌクレオチド。

【0082】

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> DAIICHI PHARMACEUTICAL CO., LTD.

KAZUSA DNA RESEARCH INSTITUTE

<120> A Novel ubiquitin specific protease

<130> NP02-1095

<140>

<141>

<150> JP P2001-301800

<151> 2001-09-28

<160> 8

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 1556

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Met Glu Gln Glu Lys Ser Leu Pro Gly Val Val Met Ala Leu Val Cys  
1 5 10 15

Asn Val Phe Asp Met Leu Tyr Gln Leu Ala Asn Leu Glu Glu Pro Arg  
20 25 30

Ile Thr Leu Arg Val Arg Lys Leu Leu Leu Ile Pro Thr Asp Pro  
35 40 45

Ala Ile Gln Glu Ala Leu Asp Gln Leu Asp Ser Leu Gly Arg Lys Lys  
50 55 60

Thr Leu Leu Ser Glu Ser Ser Ser Gln Ser Ser Lys Ser Pro Ser Leu  
65 70 75 80

Ser Ser Lys Gln Gln His Gln Pro Ser Ala Ser Ser Ile Leu Glu Ser  
85 90 95

Leu Phe Arg Ser Phe Ala Pro Gly Met Ser Thr Phe Arg Val Leu Tyr  
100 105 110

Asn Leu Glu Val Leu Ser Ser Lys Leu Met Pro Thr Ala Asp Asp Asp  
115 120 125

Met Ala Arg Ser Cys Ala Lys Ser Phe Cys Glu Asn Phe Leu Lys Ala  
130 135 140

Gly Gly Leu Ser Leu Val Val Asn Val Met Gln Arg Asp Ser Ile Pro  
145 150 155 160

Ser Glu Val Asp Tyr Glu Thr Arg Gln Gly Val Tyr Ser Ile Cys Leu

165	170	175
Gln Leu Ala Arg Phe Leu Leu Val	Gly Gln Thr Met Pro Thr Leu Leu	
180	185	190
Asp Glu Asp Leu Thr Lys Asp Gly Ile Glu Ala Leu Ser Ser Arg Pro		
195	200	205
Phe Arg Asn Val Ser Arg Gln Thr Ser Arg Gln Met Ser Leu Cys Gly		
210	215	220
Thr Pro Glu Lys Ser Ser Tyr Arg Gln Leu Ser Val Ser Asp Arg Ser		
225	230	235
Ser Ile Arg Val Glu Glu Ile Ile Pro Ala Ala Arg Val Ala Ile Gln		
245	250	255
Thr Met Glu Val Ser Asp Phe Thr Ser Thr Val Ala Cys Phe Met Arg		
260	265	270
Leu Ser Trp Ala Ala Ala Gly Arg Leu Asp Leu Val Gly Ser Ser		
275	280	285
Gln Pro Ile Lys Glu Ser Asn Ser Leu Cys Pro Ala Gly Ile Arg Asn		
290	295	300
Arg Leu Ser Ser Ser Gly Ser Asn Cys Ser Ser Gly Ser Glu Gly Glu		
305	310	315
Pro Val Ala Leu His Ala Gly Ile Cys Val Arg Gln Gln Ser Val Ser		
325	330	335
Thr Lys Asp Ser Leu Ile Ala Gly Glu Ala Leu Ser Leu Leu Val Thr		
340	345	350
Cys Leu Gln Leu Arg Ser Gln Gln Leu Ala Ser Phe Tyr Asn Leu Pro		
355	360	365
Cys Val Ala Asp Phe Ile Ile Asp Ile Leu Leu Gly Ser Pro Ser Ala		
370	375	380
Glu Ile Arg Arg Val Ala Cys Asp Gln Leu Tyr Thr Leu Ser Gln Thr		
385	390	395
Asp Thr Ser Ala His Pro Asp Val Gln Lys Pro Asn Gln Phe Leu Leu		
405	410	415
Gly Val Ile Leu Thr Ala Gln Leu Pro Leu Trp Ser Pro Thr Ser Ile		
420	425	430
Met Arg Gly Val Asn Gln Arg Leu Leu Ser Gln Cys Met Glu Tyr Phe		
435	440	445
Asp Leu Arg Cys Gln Leu Leu Asp Asp Leu Thr Thr Ser Glu Met Glu		
450	455	460
Gln Leu Arg Ile Ser Pro Ala Thr Met Leu Glu Asp Glu Ile Thr Trp		
465	470	475
Leu Asp Asn Phe Glu Pro Asn Arg Thr Ala Glu Cys Glu Thr Ser Glu		
485	490	495
Ala Asp Asn Ile Leu Leu Ala Gly His Leu Arg Leu Ile Lys Thr Leu		
500	505	510
Leu Ser Leu Cys Gly Ala Glu Lys Glu Met Leu Gly Ser Ser Leu Ile		
515	520	525
Lys Pro Leu Leu Asp Asp Phe Leu Phe Arg Ala Ser Arg Ile Ile Leu		
530	535	540
Asn Ser His Ser Pro Ala Gly Ser Ala Ala Ile Ser Gln Gln Asp Phe		
545	550	555
His Pro Lys Cys Ser Thr Ala Asn Ser Arg Leu Ala Ala Tyr Glu Val		

565	570	575
Leu Val Met Leu Ala Asp Ser Ser Pro Ser Asn Leu Gln Ile Ile		
580	585	590
Lys Glu Leu Leu Ser Met His His Gln Pro Asp Pro Ala Leu Thr Lys		
595	600	605
Glu Phe Asp Tyr Leu Pro Pro Val Asp Ser Arg Ser Ser Gly Phe		
610	615	620
Val Gly Leu Arg Asn Gly Gly Ala Thr Cys Tyr Met Asn Ala Val Phe		
625	630	635
Gln Gln Leu Tyr Met Gln Pro Gly Leu Pro Glu Ser Leu Leu Ser Val		
645	650	655
Asp Asp Asp Thr Asp Asn Pro Asp Asp Ser Val Phe Tyr Gln Val Gln		
660	665	670
Ser Leu Phe Gly His Leu Met Glu Ser Lys Leu Gln Tyr Tyr Val Pro		
675	680	685
Glu Asn Phe Trp Lys Ile Phe Lys Met Trp Asn Lys Glu Leu Tyr Val		
690	695	700
Arg Glu Gln Gln Asp Ala Tyr Glu Phe Phe Thr Ser Leu Ile Asp Gln		
705	710	715
Met Asp Glu Tyr Leu Lys Lys Met Gly Arg Asp Gln Ile Phe Lys Asn		
725	730	735
Thr Phe Gln Gly Ile Tyr Ser Asp Gln Lys Ile Cys Lys Asp Cys Pro		
740	745	750
His Arg Tyr Glu Arg Glu Glu Ala Phe Met Ala Leu Asn Leu Gly Val		
755	760	765
Thr Ser Cys Gln Ser Leu Glu Ile Ser Leu Asp Gln Phe Val Arg Gly		
770	775	780
Glu Val Leu Glu Gly Ser Asn Ala Tyr Tyr Cys Glu Lys Cys Lys Glu		
785	790	795
Lys Arg Ile Thr Val Lys Arg Thr Cys Ile Lys Ser Leu Pro Ser Val		
805	810	815
Leu Val Ile His Leu Met Arg Phe Gly Phe Asp Trp Glu Ser Gly Arg		
820	825	830
Ser Ile Lys Tyr Asp Glu Gln Ile Arg Phe Pro Trp Met Leu Asn Met		
835	840	845
Glu Pro Tyr Thr Val Ser Gly Met Ala Arg Gln Asp Ser Ser Ser Glu		
850	855	860
Val Gly Glu Asn Gly Arg Ser Val Asp Gln Gly Gly Gly Ser Pro		
865	870	875
Arg Lys Lys Val Ala Leu Thr Glu Asn Tyr Glu Leu Val Gly Val Ile		
885	890	895
Val His Ser Gly Gln Ala His Ala Gly His Tyr Tyr Ser Phe Ile Lys		
900	905	910
Asp Arg Arg Gly Cys Gly Lys Gly Lys Trp Tyr Lys Phe Asn Asp Thr		
915	920	925
Val Ile Glu Glu Phe Asp Leu Asn Asp Glu Thr Leu Glu Tyr Glu Cys		
930	935	940
Phe Gly Gly Glu Tyr Arg Pro Lys Val Tyr Asp Gln Thr Asn Pro Tyr		
945	950	955
Thr Asp Val Arg Arg Arg Tyr Trp Asn Ala Tyr Met Leu Phe Tyr Gln		

965	970	975
Arg Val Ser Asp Gln Asn Ser Pro Val Leu Pro Lys Lys Ser Arg Val		
980	985	990
Ser Val Val Arg Gln Glu Ala Glu Asp Leu Ser Leu Ser Ala Pro Ser		
995	1000	1005
Ser Pro Glu Ile Ser Pro Gln Ser Ser Pro Arg Pro His Arg Pro Asn		
1010	1015	1020
Asn Asp Arg Leu Ser Ile Leu Thr Lys Leu Val Lys Lys Gly Glu Lys		
1025	1030	1035
Lys Gly Leu Phe Val Glu Lys Met Pro Ala Arg Ile Tyr Gln Met Val		
1045	1050	1055
Arg Asp Glu Asn Leu Lys Phe Met Lys Asn Arg Asp Val Tyr Ser Ser		
1060	1065	1070
Asp Tyr Phe Ser Phe Val Leu Ser Leu Ala Ser Leu Asn Ala Thr Lys		
1075	1080	1085
Leu Lys His Pro Tyr Tyr Pro Cys Met Ala Lys Val Ser Leu Gln Leu		
1090	1095	1100
Ala Ile Gln Phe Leu Phe Gln Thr Tyr Leu Arg Thr Lys Lys Leu		
1105	1110	1115
Arg Val Asp Thr Glu Glu Trp Ile Ala Thr Ile Glu Ala Leu Leu Ser		
1125	1130	1135
Lys Ser Phe Asp Ala Cys Gln Trp Leu Val Glu Tyr Phe Ile Ser Ser		
1140	1145	1150
Glu Gly Arg Glu Leu Ile Lys Ile Phe Leu Leu Glu Cys Asn Val Arg		
1155	1160	1165
Glu Val Arg Val Ala Val Ala Thr Ile Leu Glu Lys Thr Leu Asp Ser		
1170	1175	1180
Ala Leu Phe Tyr Gln Asp Lys Leu Lys Ser Leu His Gln Leu Glu		
1185	1190	1195
Val Leu Leu Ala Leu Leu Asp Lys Asp Val Pro Glu Asn Cys Lys Asn		
1205	1210	1215
Cys Ala Gln Tyr Phe Phe Asn Thr Phe Val Gln Lys Gln Gly		
1220	1225	1230
Ile Arg Ala Gly Asp Leu Leu Arg His Ser Ala Leu Arg His Met		
1235	1240	1245
Ile Ser Phe Leu Leu Gly Ala Ser Arg Gln Asn Asn Gln Ile Arg Arg		
1250	1255	1260
Trp Ser Ser Ala Gln Ala Arg Glu Phe Gly Asn Leu His Asn Thr Val		
1265	1270	1275
Ala Leu Leu Val Leu His Ser Asp Val Ser Ser Gln Arg Asn Val Ala		
1285	1290	1295
Pro Gly Ile Phe Lys Gln Arg Pro Pro Ile Ser Ile Ala Pro Ser Ser		
1300	1305	1310
Pro Leu Leu Pro Leu His Glu Glu Val Glu Ala Leu Leu Phe Met Ser		
1315	1320	1325
Glu Gly Lys Pro Tyr Leu Leu Glu Val Met Phe Ala Leu Arg Glu Leu		
1330	1335	1340
Thr Gly Ser Leu Leu Ala Leu Ile Glu Met Val Val Tyr Cys Cys Phe		
1345	1350	1355
Cys Asn Glu His Phe Ser Phe Thr Met Leu His Phe Ile Lys Asn Gln		1360

1365	1370	1375	
Leu Glu Thr Ala Pro Pro His Glu Leu Lys Asn Thr Phe Gln Leu Leu			
1380	1385	1390	
His Glu Ile Leu Val Ile Glu Asp Pro Ile Gln Ala Glu Arg Val Lys			
1395	1400	1405	
Phe Val Phe Glu Thr Glu Asn Gly Leu Leu Ala Leu Met His His Ser			
1410	1415	1420	
Asn His Val Asp Ser Ser Arg Cys Tyr Gln Cys Val Lys Phe Leu Val			
1425	1430	1435	1440
Thr Leu Ala Gln Lys Cys Pro Ala Ala Lys Glu Tyr Phe Lys Glu Asn			
1445	1450	1455	
Ser His His Trp Ser Trp Ala Val Gln Trp Leu Gln Lys Lys Met Ser			
1460	1465	1470	
Glu His Tyr Trp Thr Pro Gln Ser Asn Val Ser Asn Glu Thr Ser Thr			
1475	1480	1485	
Gly Lys Thr Phe Gln Arg Thr Ile Ser Ala Gln Asp Thr Leu Ala Tyr			
1490	1495	1500	
Ala Thr Ala Leu Leu Asn Glu Lys Glu Gln Ser Gly Ser Ser Asn Gly			
1505	1510	1515	1520
Ser Glu Ser Ser Pro Ala Asn Glu Asn Gly Asp Arg His Leu Gln Gln			
1525	1530	1535	
Gly Ser Glu Ser Pro Met Met Ile Gly Glu Leu Arg Ser Asp Leu Asp			
1540	1545	1550	
Asp Val Asp Pro			
1555			

<210> 2  
 <211> 7744  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (389)..(5059)

<400> 2  
 gatcaactata gaggattttt actctgttcc acgaaactatt ctacacctatg gtgcctcatt 60  
 tcatggacat ctttaaccc ttaatgttac ctatgagtct accaaagata ccttcactgt 120  
 cgaggctcac agtaatgaaa ccataggag tgtccgggtgg aaaatagcca agcagttgtg 180  
 ctctcctgtg gataatatac agatatttac aaatgatagc ctgctgacag tgaataaaga 240  
 tcaaaagcta ctccaccaac tgggctttc tcatgttacaa atccttacag tgaagacttc 300  
 tggcagtggg accccatctg ggagttcagc agattttca accagctcca gcagcagcag 360  
 cagtgggtt ttttagttctt catatgcc atg gag cag gag aaa tcc ctc cct 412

			Met	Glu	Gln	Glu	Lys	Ser	Leu	Pro								
			1						5									
ggt	gta	gtg	atg	gct	ctc	gta	tgt	aac	gta	ttt	gac	atg	ctt	tat	cag	460		
Gly	Val	Val	Met	Ala	Leu	Val	Cys	Asn	Val	Phe	Asp	Met	Leu	Tyr	Gln			
10																20		
ctc	gcc	aat	ctg	gaa	gag	cca	agg	ata	act	cta	cga	gta	cgg	aag	ctt	508		
Leu	Ala	Asn	Leu	Glu	Glu	Pro	Arg	Ile	Thr	Leu	Arg	Val	Arg	Lys	Leu			
25																40		
ctg	ctc	ttg	ata	ccc	act	gat	cca	gcc	att	cag	gaa	gcc	ctt	gat	caa	556		
Leu	Leu	Leu	Ile	Pro	Thr	Asp	Pro	Ala	Ile	Gln	Glu	Ala	Leu	Asp	Gln			
45																55		
ctt	gat	tct	tta	gga	aga	aag	aaa	aca	ttg	ctg	tct	gaa	tca	agt	tct	604		
Leu	Asp	Ser	Leu	Gly	Arg	Lys	Lys	Thr	Leu	Leu	Ser	Glu	Ser	Ser	Ser			
60																70		
cag	tcc	tca	aaa	tct	cca	tcc	ctg	tca	tca	aag	caa	cag	cac	cag	cca	652		
Gln	Ser	Ser	Lys	Ser	Pro	Ser	Leu	Ser	Ser	Lys	Gln	Gln	His	Gln	Pro			
75																85		
agt	gcc	agt	tca	att	tta	gaa	agt	ctg	ttt	cga	tct	ttt	gcc	ccg	gga	700		
Ser	Ala	Ser	Ser	Ile	Leu	Glu	Ser	Leu	Phe	Arg	Ser	Phe	Ala	Pro	Gly			
90																100		
atg	tct	acc	ttc	aga	gtg	ctc	tac	aac	tta	gaa	gtt	cta	agc	tcc	aaa	748		
Met	Ser	Thr	Phe	Arg	Val	Leu	Tyr	Asn	Leu	Glu	Val	Leu	Ser	Ser	Lys			
105																120		
ctc	atg	cca	aca	gct	gat	gat	gac	atg	gcc	aga	agc	tgt	gcc	aaa	tcc	796		
Leu	Met	Pro	Thr	Ala	Asp	Asp	Asp	Met	Ala	Arg	Ser	Cys	Ala	Lys	Ser			
125																135		
ttc	tgt	gaa	aac	ttc	ctc	aaa	gct	ggc	ggt	ttg	agt	ttg	gtt	gta	aat	844		
Phe	Cys	Glu	Asn	Phe	Leu	Lys	Ala	Gly	Gly	Leu	Ser	Leu	Val	Val	Asn			
140																150		
gtc	atg	cag	aga	gac	tcc	atc	cca	tca	gaa	gta	gac	tat	gaa	aca	agg	892		
Val	Met	Gln	Arg	Asp	Ser	Ile	Pro	Ser	Glu	Val	Asp	Tyr	Glu	Thr	Arg			
155																165		
cag	ggt	gtt	tat	tcc	atc	tgt	cta	cag	ctt	gca	aga	ttt	tta	ctt	gtc	940		
Gln	Gly	Val	Tyr	Ser	Ile	Cys	Leu	Gln	Leu	Ala	Arg	Phe	Leu	Leu	Val			
170																180		
gga	caa	aca	atg	ccc	acg	tta	tta	gat	gaa	gac	ctc	acc	aaa	gat	ggt	988		
Gly	Gln	Thr	Met	Pro	Thr	Leu	Leu	Asp	Glu	Asp	Leu	Thr	Lys	Asp	Gly			
185																200		

ata gaa gca ctt tct tcc cgc cca ttc cga aat gtc agc cgg cag aca	1036		
Ile Glu Ala Leu Ser Ser Arg Pro Phe Arg Asn Val Ser Arg Gln Thr			
205	210	215	
agc aga cag atg tcc tta tgt ggt acc cca gaa aag tca tcc tac cga	1084		
Ser Arg Gln Met Ser Leu Cys Gly Thr Pro Glu Lys Ser Ser Tyr Arg			
220	225	230	
cag ttg tcc gtg tct gat agg tct tct att agg gtt gag gaa atc atc	1132		
Gln Leu Ser Val Ser Asp Arg Ser Ser Ile Arg Val Glu Ile Ile			
235	240	245	
cct gct gct cga gtt gca ata caa aca atg gaa gta agt gat ttc act	1180		
Pro Ala Ala Arg Val Ala Ile Gln Thr Met Glu Val Ser Asp Phe Thr			
250	255	260	
tct act gtg gct tgc ttc atg aga ttg tca tgg gct gcg gct gca gga	1228		
Ser Thr Val Ala Cys Phe Met Arg Leu Ser Trp Ala Ala Ala Gly			
265	270	275	280
cgg ctt gat ctt gtt ggg agt agc cag cca att aaa gaa agt aat tcc	1276		
Arg Leu Asp Leu Val Gly Ser Ser Gln Pro Ile Lys Glu Ser Asn Ser			
285	290	295	
ctg tgt cct gct gga att cga aac aga ctc agc agt tca gga agc aat	1324		
Leu Cys Pro Ala Gly Ile Arg Asn Arg Leu Ser Ser Ser Gly Ser Asn			
300	305	310	
tgc agc tct gga agt gaa gga gaa cca gta gcc ctg cat gcg gga atc	1372		
Cys Ser Ser Gly Ser Glu Gly Glu Pro Val Ala Leu His Ala Gly Ile			
315	320	325	
tgt gtt cga caa cag tct gta tcc acc aaa gac tcg ctg att gcg gga	1420		
Cys Val Arg Gln Gln Ser Val Ser Thr Lys Asp Ser Leu Ile Ala Gly			
330	335	340	
gag gct ttg tct ctt ctt gtt acg tgc cta cag ctt cgg agc cag caa	1468		
Glu Ala Leu Ser Leu Leu Val Thr Cys Leu Gln Leu Arg Ser Gln Gln			
345	350	355	360
ctg gca tct ttc tat aac ttg ccc tgt gtt gct gat ttc atc att gat	1516		
Leu Ala Ser Phe Tyr Asn Leu Pro Cys Val Ala Asp Phe Ile Ile Asp			
365	370	375	
att ctg ctc gga tca cca agt gct gag att cgc cgg gtt gcc tgt gat	1564		
Ile Leu Leu Gly Ser Pro Ser Ala Glu Ile Arg Arg Val Ala Cys Asp			
380	385	390	
cag ctg tac act ctt agt cag aca gac aca tca gcg cat cca gat gtg	1612		

Gln	Leu	Tyr	Thr	Leu	Ser	Gln	Thr	Asp	Thr	Ser	Ala	His	Pro	Asp	Val	
395				400					405							
cag	aag	cca	aat	cag	ttt	ctt	cta	ggc	gta	atc	ctc	acg	gct	cag	ctg	1660
Gln	Lys	Pro	Asn	Gln	Phe	Leu	Leu	Gly	Val	Ile	Leu	Thr	Ala	Gln	Leu	
410				415					420							
cct	ctc	tgg	tct	cca	act	agt	att	atg	aga	gga	gtc	aat	cag	aga	ctg	1708
Pro	Leu	Trp	Ser	Pro	Thr	Ser	Ile	Met	Arg	Gly	Val	Asn	Gln	Arg	Leu	
425				430				435				440				
tta	tct	cag	tgt	atg	gag	tat	ttt	gat	ttg	aga	tgc	cag	tta	tta	gat	1756
Leu	Ser	Gln	Cys	Met	Glu	Tyr	Phe	Asp	Leu	Arg	Cys	Gln	Leu	Leu	Asp	
445				450				455								
gat	ctg	aca	act	tca	gaa	atg	gag	cag	tta	agg	atc	agc	cca	gct	acg	1804
Asp	Leu	Thr	Thr	Ser	Glu	Met	Glu	Gln	Leu	Arg	Ile	Ser	Pro	Ala	Thr	
460				465				470								
atg	ctt	gaa	gat	gag	att	act	tgg	ctg	gat	aac	ttt	gaa	cct	aat	cgt	1852
Met	Leu	Glu	Asp	Glu	Ile	Thr	Trp	Leu	Asp	Asn	Phe	Glu	Pro	Asn	Arg	
475				480				485								
aca	gct	gaa	tgt	gag	acc	agt	gaa	gcg	gac	aac	atc	tta	ctg	gca	ggg	1900
Thr	Ala	Glu	Cys	Glu	Thr	Ser	Glu	Ala	Asp	Asn	Ile	Leu	Leu	Ala	Gly	
490				495				500								
cac	tta	cgc	ctc	atc	aag	acc	ctt	ctt	tca	ctc	tgt	ggg	gca	gaa	aag	1948
His	Leu	Arg	Leu	Ile	Lys	Thr	Leu	Leu	Ser	Leu	Cys	Gly	Ala	Glu	Lys	
505				510				515				520				
gaa	atg	ctt	ggt	tca	tca	ctc	att	aaa	cca	ttg	tta	gat	gac	ttc	ctt	1996
Glu	Met	Leu	Gly	Ser	Ser	Leu	Ile	Lys	Pro	Leu	Leu	Asp	Asp	Phe	Leu	
525				530				535								
ttc	cga	gct	tct	aga	att	att	tta	aat	agt	cat	tct	cca	gct	ggc	agt	2044
Phe	Arg	Ala	Ser	Arg	Ile	Ile	Leu	Asn	Ser	His	Ser	Pro	Ala	Gly	Ser	
540				545				550								
gcc	gcc	atc	agt	caa	cag	gac	ttt	cat	cca	aag	tgt	agt	aca	gct	aat	2092
Ala	Ala	Ile	Ser	Gln	Gln	Asp	Phe	His	Pro	Lys	Cys	Ser	Thr	Ala	Asn	
555				560				565								
agc	cga	ttg	gca	gcc	tat	gaa	gtc	ctt	gtg	atg	ttg	gct	gat	agt	tca	2140
Ser	Arg	Leu	Ala	Ala	Tyr	Glu	Val	Leu	Val	Met	Leu	Ala	Asp	Ser	Ser	
570				575				580								
cct	tca	aat	ctt	caa	att	att	ata	aaa	gaa	ctg	ctt	tct	atg	cat	cac	2188
Pro	Ser	Asn	Leu	Gln	Ile	Ile	Ile	Lys	Glu	Leu	Leu	Ser	Met	His	His	
585				590				595				600				

cag cct gac cct gct ctt acc aag gag ttt gat tac ctt ccc cca gtg 2236  
 Gln Pro Asp Pro Ala Leu Thr Lys Glu Phe Asp Tyr Leu Pro Pro Val  
 605 610 615  
  
 gat agc agg tcc agt tca ggg ttt gtg ggg ctg aga aat ggt gca 2284  
 Asp Ser Arg Ser Ser Gly Phe Val Gly Leu Arg Asn Gly Gly Ala  
 620 625 630  
  
 act tgt tat atg aat gca gtc ttc cag cag ctg tat atg caa cct ggg 2332  
 Thr Cys Tyr Met Asn Ala Val Phe Gln Gln Leu Tyr Met Gln Pro Gly  
 635 640 645  
  
 ctc cct gag tca tta ctt tca gtg gat gat gac aca gac aat cca gat 2380  
 Leu Pro Glu Ser Leu Leu Ser Val Asp Asp Asp Thr Asp Asn Pro Asp  
 650 655 660  
  
 gat agc gtg ttt tac caa gtg cag tct ctc ttt gga cat tta atg gaa 2428  
 Asp Ser Val Phe Tyr Gln Val Gln Ser Leu Phe Gly His Leu Met Glu  
 665 670 675 680  
  
 agc aag ctg cag tac tat gta cct gag aat ttt tgg aag att ttc aag 2476  
 Ser Lys Leu Gln Tyr Tyr Val Pro Glu Asn Phe Trp Lys Ile Phe Lys  
 685 690 695  
  
 atg tgg aat aaa gaa ctt tat gtg aga gaa cag cag gat gca tat gaa 2524  
 Met Trp Asn Lys Glu Leu Tyr Val Arg Glu Gln Gln Asp Ala Tyr Glu  
 700 705 710  
  
 ttc ttt act agt ctc att gat cag atg gat gaa tac ctc aag aaa atg 2572  
 Phe Phe Thr Ser Leu Ile Asp Gln Met Asp Glu Tyr Leu Lys Lys Met  
 715 720 725  
  
 ggg aga gac caa att ttt aag aat aca ttt cag ggc atc tac tct gat 2620  
 Gly Arg Asp Gln Ile Phe Lys Asn Thr Phe Gln Gly Ile Tyr Ser Asp  
 730 735 740  
  
 cag aag atc tgt aaa gac tgt cct cac aga tat gag cgt gaa gaa gct 2668  
 Gln Lys Ile Cys Lys Asp Cys Pro His Arg Tyr Glu Arg Glu Glu Ala  
 745 750 755 760  
  
 ttc atg gct ctc aat cta gga gtg act tct tgt cag agt ttg gaa att 2716  
 Phe Met Ala Leu Asn Leu Gly Val Thr Ser Cys Gln Ser Leu Glu Ile  
 765 770 775  
  
 tct ttg gac caa ttt gtt aga gga gaa gtt cta gaa gga agt aat gcg 2764  
 Ser Leu Asp Gln Phe Val Arg Gly Glu Val Leu Glu Gly Ser Asn Ala  
 780 785 790  
  
 tac tac tgt gaa aag tgt aaa gaa aag aga ata aca gtg aaa agg acc 2812

Tyr Tyr Cys Glu Lys Cys Lys Glu Lys Arg Ile Thr Val Lys Arg Thr  
 795 800 805  
  
 tgt att aaa tct tta cct agc gtc ttg gta att cac cta atg aga ttt 2860  
 Cys Ile Lys Ser Leu Pro Ser Val Leu Val Ile His Leu Met Arg Phe  
 810 815 820  
  
 ggg ttt gac tgg gaa agc gga cgc tcc att aaa tat gat gaa caa ata 2908  
 Gly Phe Asp Trp Glu Ser Gly Arg Ser Ile Lys Tyr Asp Glu Gln Ile  
 825 830 835 840  
  
 agg ttt ccc tgg atg cta aac atg gag cct tac aca gtt tca gga atg 2956  
 Arg Phe Pro Trp Met Leu Asn Met Glu Pro Tyr Thr Val Ser Gly Met  
 845 850 855  
  
 gct cgc caa gat tct tct gaa gtt ggg gaa aat ggg cga agt gtg 3004  
 Ala Arg Gln Asp Ser Ser Glu Val Gly Glu Asn Gly Arg Ser Val  
 860 865 870  
  
 gat cag ggc ggt gga gga tcc cca cga aaa aag gtt gcc ctc aca gaa 3052  
 Asp Gln Gly Gly Ser Pro Arg Lys Lys Val Ala Leu Thr Glu  
 875 880 885  
  
 aac tat gaa ctt gtc ggt gtc atc gta cac agt ggg cag gca cac gca 3100  
 Asn Tyr Glu Leu Val Gly Val Ile Val His Ser Gly Gln Ala His Ala  
 890 895 900  
  
 ggc cac tac tat tcc ttc att aag gac agg cga ggg tgt gga aaa gga 3148  
 Gly His Tyr Tyr Ser Phe Ile Lys Asp Arg Arg Gly Cys Gly Lys Gly  
 905 910 915 920  
  
 aag tgg tat aaa ttt aat gac aca gtt ata gaa gaa ttt gac cta aat 3196  
 Lys Trp Tyr Lys Phe Asn Asp Thr Val Ile Glu Glu Phe Asp Leu Asn  
 925 930 935  
  
 gac gag acc ctg gag tat gaa tgc ttt gga gga gaa tat aga cca aaa 3244  
 Asp Glu Thr Leu Glu Tyr Glu Cys Phe Gly Gly Glu Tyr Arg Pro Lys  
 940 945 950  
  
 gtt tat gat caa aca aac cca tac act gat gtg cgc cga aga tac tgg 3292  
 Val Tyr Asp Gln Thr Asn Pro Tyr Thr Asp Val Arg Arg Arg Tyr Trp  
 955 960 965  
  
 aat gcc tat atg ctt ttc tac caa agg gtg tct gat cag aac tcc cca 3340  
 Asn Ala Tyr Met Leu Phe Tyr Gln Arg Val Ser Asp Gln Asn Ser Pro  
 970 975 980  
  
 gta tta cca aag aaa agt cga gtc agc gtt gta cgg cag gaa gct gag 3388  
 Val Leu Pro Lys Lys Ser Arg Val Ser Val Val Arg Gln Glu Ala Glu  
 985 990 995 1000

gat ctc tct ctg tca gct cca tct tca cca gaa att tca cct cag tca	3436
Asp Leu Ser Leu Ser Ala Pro Ser Ser Pro Glu Ile Ser Pro Gln Ser	
1005 1010 1015	
tcc cct egg ccc cat agg ccg aac aat gac egg ctg tet att ctt acc	3484
Ser Pro Arg Pro His Arg Pro Asn Asn Asp Arg Leu Ser Ile Leu Thr	
1020 1025 1030	
aag ctg gtt aaa aaa ggc gag aag aaa gga ctg ttt gtg gag aaa atg	3532
Lys Leu Val Lys Lys Gly Glu Lys Lys Gly Leu Phe Val Glu Lys Met	
1035 1040 1045	
cct gct cga ata tac cag atg gtg aga gat gag aac ctc aag ttt atg	3580
Pro Ala Arg Ile Tyr Gln Met Val Arg Asp Glu Asn Leu Lys Phe Met	
1050 1055 1060	
aag aat aga gat gta tac agt agt gat tat ttc agt ttt gtt ttg tct	3628
Lys Asn Arg Asp Val Tyr Ser Ser Asp Tyr Phe Ser Phe Val Leu Ser	
1065 1070 1075 1080	
tta gct tca ttg aat gct act aaa tta aag cat cca tat tat cct tgc	3676
Leu Ala Ser Leu Asn Ala Thr Lys Leu Lys His Pro Tyr Tyr Pro Cys	
1085 1090 1095	
atg gca aag gtg agc tta cag ctt gct att caa ttc ctt ttt caa act	3724
Met Ala Lys Val Ser Leu Gln Leu Ala Ile Gln Phe Leu Phe Gln Thr	
1100 1105 1110	
tat cta cgg aca aag aag aaa ctc agg gtt gat act gaa gaa tgg att	3772
Tyr Leu Arg Thr Lys Lys Leu Arg Val Asp Thr Glu Glu Trp Ile	
1115 1120 1125	
gct acc att gaa gca ttg ctt tca aaa agt ttt gat gct tgt cag tgg	3820
Ala Thr Ile Glu Ala Leu Leu Ser Lys Ser Phe Asp Ala Cys Gln Trp	
1130 1135 1140	
tta gtt gaa tat ttt att agt tct gaa gga cga gaa ttg ata aag att	3868
Leu Val Glu Tyr Phe Ile Ser Ser Glu Gly Arg Glu Leu Ile Lys Ile	
1145 1150 1155 1160	
ttc tta ctg gag tgc aat gtg aga gaa gta cga gtt gct gtg gcc acc	3916
Phe Leu Leu Glu Cys Asn Val Arg Glu Val Arg Val Ala Val Ala Thr	
1165 1170 1175	
att ctg gag aaa acc cta gac agt gcc ttg ttt tat cag gat aag tta	3964
Ile Leu Glu Lys Thr Leu Asp Ser Ala Leu Phe Tyr Gln Asp Lys Leu	
1180 1185 1190	
aaa agc ctt cat cag tta ctg gag gta cta ctt gct ctg ttg gac aaa	4012

Lys Ser Leu His Gln Leu Leu Glu Val Leu Leu Ala Leu Leu Asp Lys  
 1195 1200 1205  
  
 gac gtc cca gaa aat tgt aaa aac tgt gct cag tac ttt ttc ctg ttc 4060  
 Asp Val Pro Glu Asn Cys Lys Asn Cys Ala Gln Tyr Phe Phe Leu Phe  
 1210 1215 1220  
  
 aac act ttt gta caa aag caa gga att agg gct gga gat ctt ctt ctg 4108  
 Asn Thr Phe Val Gln Lys Gln Gly Ile Arg Ala Gly Asp Leu Leu  
 1225 1230 1235 1240  
  
 agg cat tca gct ctg cgg cac atg atc agc ttc ctc cta ggg gcc agt 4156  
 Arg His Ser Ala Leu Arg His Met Ile Ser Phe Leu Leu Gly Ala Ser  
 1245 1250 1255  
  
 cgg caa aac aat cag ata cgt cga tgg agt tca gca caa gca cga gaa 4204  
 Arg Gln Asn Asn Gln Ile Arg Arg Trp Ser Ser Ala Gln Ala Arg Glu  
 1260 1265 1270  
  
 ttt ggg aat ctt cac aat aca gtg gcg tta ctt gtt ttg cat tca gat 4252  
 Phe Gly Asn Leu His Asn Thr Val Ala Leu Leu Val Leu His Ser Asp  
 1275 1280 1285  
  
 gtc tca tcc caa agg aat gtt gct cct ggc ata ttt aag caa cga cca 4300  
 Val Ser Ser Gln Arg Asn Val Ala Pro Gly Ile Phe Lys Gln Arg Pro  
 1290 1295 1300  
  
 ccc att agc att gct ccc tca agc cct ctg ttg ccc ctc cat gag gag 4348  
 Pro Ile Ser Ile Ala Pro Ser Ser Pro Leu Leu Pro Leu His Glu Glu  
 1305 1310 1315 1320  
  
 gta gaa gcc ttg ttg ttc atg tct gaa ggg aaa cct tac ctg tta gag 4396  
 Val Glu Ala Leu Leu Phe Met Ser Glu Gly Lys Pro Tyr Leu Glu  
 1325 1330 1335  
  
 gta atg ttt gct ttg cgg gag ctg aca ggc tgc ctc ttg gca ctc att 4444  
 Val Met Phe Ala Leu Arg Glu Leu Thr Gly Ser Leu Leu Ala Leu Ile  
 1340 1345 1350  
  
 gag atg gta gtg tac tgc tgt ttc tgt aat gag cat ttt tcc ttc aca 4492  
 Glu Met Val Val Tyr Cys Cys Phe Cys Asn Glu His Phe Ser Phe Thr  
 1355 1360 1365  
  
 atg ctg cat ttc att aag aac caa cta gaa acg gct cca cct cat gag 4540  
 Met Leu His Phe Ile Lys Asn Gln Leu Glu Thr Ala Pro Pro His Glu  
 1370 1375 1380  
  
 tta aag aat acg ttc caa cta ctt cat gaa ata ttg gtt att gaa gat 4588  
 Leu Lys Asn Thr Phe Gln Leu Leu His Glu Ile Leu Val Ile Glu Asp  
 1385 1390 1395 1400

cct ata caa gca gag cga gtc aaa ttt gtg ttt gag aca gaa aat gga 4636  
 Pro Ile Gln Ala Glu Arg Val Lys Phe Val Phe Glu Thr Glu Asn Gly  
                  1405                 1410                 1415  
  
 tta cta gct ttg atg cac cac agt aat cat gtg gac agt agt cgc tgc 4684  
 Leu Leu Ala Leu Met His His Ser Asn His Val Asp Ser Ser Arg Cys  
                  1420                 1425                 1430  
  
 tac cag tgt gtc aaa ttt ctt gtc act ctt gct caa aag tgt cct gca 4732  
 Tyr Gln Cys Val Lys Phe Leu Val Thr Leu Ala Gln Lys Cys Pro Ala  
                  1435                 1440                 1445  
  
 gct aag gag tac ttc aag gag aat tcc cac cac tgg agc tgg gct gtg 4780  
 Ala Lys Glu Tyr Phe Lys Glu Asn Ser His His Trp Ser Trp Ala Val  
                  1450                 1455                 1460  
  
 cag tgg cta cag aag aag atg tca gaa cat tac tgg aca cca cag agt 4828  
 Gln Trp Leu Gln Lys Lys Met Ser Glu His Tyr Trp Thr Pro Gln Ser  
                  1465                 1470                 1475                 1480  
  
 aat gtc tct aat gaa aca tca act gga aaa acc ttt cag cga acc att 4876  
 Asn Val Ser Asn Glu Thr Ser Thr Gly Lys Thr Phe Gln Arg Thr Ile  
                  1485                 1490                 1495  
  
 tca gct cag gac acg tta gcg tat gcc aca gct ttg ttg aat gaa aaa 4924  
 Ser Ala Gln Asp Thr Leu Ala Tyr Ala Thr Leu Leu Asn Glu Lys  
                  1500                 1505                 1510  
  
 gag caa tca gga agc agt aat ggg tcg gag agt agt cct gcc aat gag 4972  
 Glu Gln Ser Gly Ser Ser Asn Gly Ser Glu Ser Ser Pro Ala Asn Glu  
                  1515                 1520                 1525  
  
 aac gga gac agg cat cta cag cag ggt tca gaa tct ccc atg atg att 5020  
 Asn Gly Asp Arg His Leu Gln Gln Gly Ser Glu Ser Pro Met Met Ile  
                  1530                 1535                 1540  
  
 ggt gag ttg aga agt gac ctt gat gat gtt gat ccc tag aggaacatgc 5069  
 Gly Glu Leu Arg Ser Asp Leu Asp Asp Val Asp Pro  
                  1545                 1550                 1555  
  
 ccagcctgag aggagtcaag acacaatact ggatgctcag caccttcttg gaatcagaat 5129  
  
 ctgcgaaccct ttggaagagc ctggagattg gactggaaaa gctgctgtga ctggggcgga 5189  
  
 tcgtgtattt ctcaaggaaa gcattttaa gccactagaa ggtttggag ctgtttggca 5249  
  
 gtgggagaac tccggcatgt ggatcagctg tcccgaggc gtggctata tgtggattca 5309  
  
 catttctgtg gagatttcg gaaatagagc cagtggcaga ctttttgtt acacgaacat 5369

acaagagtga gcataaagct gttgcttct ctacgatgct acaaaagaaa ttcccttggt 5429  
tttatattt taagaaaaag caagctgctt ttagatatgt ggggcaaat tttaatctt 5489  
gcagtaatat taaacaggaa tatccaattt aaaatgatgt aaagatgtaa taaaatctt 5549  
ttcattgta aaatagtaat taagtcaatt tacacagacc tttgtattt atatgtctcc 5609  
ctatttgtat agaatttcag atgggtctag atgagaaccc tatgcataag ctggatctt 5669  
gatgaaaggt taccaggatc aggtcaaaa attggaaat actaagctct tgaagatatt 5729  
ttctgatataattagattt aaaaagagcaa ttttggaaat gctgtttctt ccagaagtac 5789  
agggtgcatt atttgcacatc aattacttaa agaagttatg agttgtccc caaacagatt 5849  
ttaaaaacag caaaataaaa gcacttaag atataatttt actgagttt acttcacaga 5909  
attatcttt taatgttttgg agacatattt aataaactgt agtcttaat catgtgatct 5969  
gcaatcgaaaat gctttgctt aaaacataat tactgaaacc ctgggtattt gttgtatatt 6029  
aagttacta tttgagttgg tacacactgc ttgtgagttt catagtttattt gtaatgcaga 6089  
gaaggaattt gagaatttgtt ttctcctcaa catgactaat taacactgaa aagtcagtca 6149  
aggttaaga tttttttcc cagaaataaaa tataaagcaa ttgaataacc atccatttag 6209  
tcgttatttcc aaagtatagc accattcaact catttataacc agtcccttt tatgggtgtgg 6269  
gggagaggtt tacacccaca tatttcatat atattttgtt cattttgtat tttgaattgc 6329  
tcacattttc ggccctgttt tgccttagt tacaggtctt gccttattttt catctcacca 6389  
tgcacagaac tagggacct taggaagtgc caggtttca ctgtcagatt tgccaagtca 6449  
cagaggcgca gccagccctg aagtgcctgt ctggctgtg tggcattgtg tggcatgtg 6509  
gccaggcaga tggcatctca ttactgtgtct ctcgcattgg cccagtcattt tcattctctg 6569  
gcagtgaggg tttctgtgtct gtcagacttc attgttatttgc tgtgacttgc tggaggttgg 6629  
cagtggcctt tgtcaaacac actgagaaga tggaaaggcc agcacttaag agcagaactg 6689  
tacccttaga gaaacggaca gaggcgagtg gcaaaacttca gacggttcca atggctttgc 6749  
agtttgaat gtgatgttctt accattgggtt ttgagttacgt gaataacttcc tgcctactg 6809  
tttccctac cctattctca cttctctcc gcccacatcc tcaccaagag attgtgtgg 6869

acatgacctt gaaatgctgg cgatgatcca cactggata tcatcgctgg cgactgcact 6929  
 ctcaggagcc caaaatcagg agtgaattt ccacttctag tccccttatt tcctatggaa 6989  
 acaacgcctt ccgcacccct agcacctgcc gtcetcaactg taaagggtca tcaggatgt 7049  
 ccaccgtgta tattatacgc ttcagatcat gttgcttata ttgttgcgc aatgaccatc 7109  
 gttttcactt tgctggtaac cacttgattt ctgacagcta cagtcaatga acctgctgat 7169  
 gactttttt aatgttagtac aacagtgaca gttatgacag gcttaccttgc gaagagttgt 7229  
 cattttact gccaattttt tggatgaaga tggatgttata aaccttcaa aatggtctgc 7289  
 aaacagagca ggaattgcac aattaactca ataatgctgt gtgttctcaa gaagctccct 7349  
 tagtgaggcc gatcttaaga tggccgattc tgcccggttga aggcatcctg gaaaagaaaa 7409  
 caagcatccc agcgggcac tcaccacgac ttcccttggaa gtcctcacac ggtcaactgac 7469  
 aactacagtc agttttagga actagagtgc cgtatcatca gacttaccct gtctgccttc 7529  
 accttccctg ctaacatcga ggtgtgtca gttaccttct gagttggaa caagcagact 7589  
 ggaattttcc tctgttaccc ttgtgttata aaatcttggtt tataaaattt caaaaggaag 7649  
 tagatacact aggaaagaac ctttattcta aatttggttc atgtgtggca aagttcttag 7709  
 cttctaagag tataaaataa attttcaaa aacag 7744

<210> 3  
 <211> 521  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 3  
 Met Glu Gln Glu Lys Ser Leu Pro Gly Val Val Met Ala Leu Val Cys  
 1 5 10 15

Asn Val Phe Asp Met Leu Tyr Gln Leu Ala Asn Leu Glu Glu Pro Arg  
 20 25 30

Ile Thr Leu Arg Val Arg Lys Leu Leu Leu Leu Ile Pro Thr Asp Pro  
 35 40 45

Ala Ile Gln Glu Ala Leu Asp Gln Leu Asp Ser Leu Gly Arg Lys Lys  
 50 55 60

Thr Leu Leu Ser Glu Ser Ser Ser Gln Ser Ser Lys Ser Pro Ser Leu  
 65 70 75 80  
  
 Ser Ser Lys Gln Gln His Gln Pro Ser Ala Ser Ser Ile Leu Glu Ser  
 85 90 95  
  
 Leu Phe Arg Ser Phe Ala Pro Gly Met Ser Thr Phe Arg Val Leu Tyr  
 100 105 110  
  
 Asn Leu Glu Val Leu Ser Ser Lys Leu Met Pro Thr Ala Asp Asp Asp  
 115 120 125  
  
 Met Ala Arg Ser Cys Ala Lys Ser Phe Cys Glu Asn Phe Leu Lys Ala  
 130 135 140  
  
 Gly Gly Leu Ser Leu Val Val Asn Val Met Gln Arg Asp Ser Ile Pro  
 145 150 155 160  
  
 Ser Glu Val Asp Tyr Glu Thr Arg Gln Gly Val Tyr Ser Ile Cys Leu  
 165 170 175  
  
 Gln Leu Ala Arg Phe Leu Leu Val Gly Gln Thr Met Pro Thr Leu Leu  
 180 185 190  
  
 Asp Glu Asp Leu Thr Lys Asp Gly Ile Glu Ala Leu Ser Ser Arg Pro  
 195 200 205  
  
 Phe Arg Asn Val Ser Arg Gln Thr Ser Arg Gln Met Ser Leu Cys Gly  
 210 215 220  
  
 Thr Pro Glu Lys Ser Ser Tyr Arg Gln Leu Ser Val Ser Asp Arg Ser  
 225 230 235 240  
  
 Ser Ile Arg Val Glu Glu Ile Ile Pro Ala Ala Arg Val Ala Ile Gln  
 245 250 255  
  
 Thr Met Glu Val Ser Asp Phe Thr Ser Thr Val Ala Cys Phe Met Arg  
 260 265 270  
  
 Leu Ser Trp Ala Ala Ala Gly Arg Leu Asp Leu Val Gly Ser Ser  
 275 280 285  
  
 Gln Pro Ile Lys Glu Ser Asn Ser Leu Cys Pro Ala Gly Ile Arg Asn  
 290 295 300  
  
 Arg Leu Ser Ser Ser Gly Ser Asn Cys Ser Ser Gly Ser Glu Gly Glu  
 305 310 315 320  
  
 Pro Val Ala Leu His Ala Gly Ile Cys Val Arg Gln Gln Ser Val Ser  
 325 330 335

Thr Lys Asp Ser Leu Ile Ala Gly Glu Ala Leu Ser Leu Leu Val Thr  
 340 345 350

Cys Leu Gln Leu Arg Ser Gln Gln Leu Ala Ser Phe Tyr Asn Leu Pro  
 355 360 365

Cys Val Ala Asp Phe Ile Ile Asp Ile Leu Leu Gly Ser Pro Ser Ala  
 370 375 380

Glu Ile Arg Arg Val Ala Cys Asp Gln Leu Tyr Thr Leu Ser Gln Thr  
 385 390 395 400

Asp Thr Ser Ala His Pro Asp Val Gln Lys Pro Asn Gln Phe Leu Leu  
 405 410 415

Gly Val Ile Leu Thr Ala Gln Leu Pro Leu Trp Ser Pro Thr Ser Ile  
 420 425 430

Met Arg Gly Val Asn Gln Arg Leu Leu Ser Gln Cys Met Glu Tyr Phe  
 435 440 445

Asp Leu Arg Cys Gln Leu Leu Asp Asp Leu Thr Thr Ser Glu Met Glu  
 450 455 460

Gln Leu Arg Ile Ser Pro Ala Thr Met Leu Glu Asp Glu Ile Thr Trp  
 465 470 475 480

Leu Asp Asn Phe Glu Pro Asn Arg Thr Ala Glu Cys Glu Thr Ser Glu  
 485 490 495

Ala Asp Asn Ile Leu Leu Ala Gly His Leu Arg Leu Ile Lys Thr Leu  
 500 505 510

Leu Ser Leu Cys Gly Ala Glu Lys Glu  
 515 520

<210> 4

<211> 1563

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1563)

<400> 4

atg gag cag gag aaa tcc ctc cct ggt gta gtg atg gct ctc gta tgt 48  
 Met Glu Gln Glu Lys Ser Leu Pro Gly Val Val Met Ala Leu Val Cys

1	5	10	15	
aac gta ttt gac atg ctt tat cag ctc gcc aat ctg gaa gag cca agg				96
Asn Val Phe Asp Met Leu Tyr Gln Leu Ala Asn Leu Glu Glu Pro Arg				
20	25		30	
ata act cta cga gta cgg aag ctt ctg ctc ttg ata ccc act gat cca				144
Ile Thr Leu Arg Val Arg Lys Leu Leu Leu Ile Pro Thr Asp Pro				
35	40		45	
gcc att cag gaa gcc ctt gat caa ctt gat tct tta gga aga aag aaa				192
Ala Ile Gln Glu Ala Leu Asp Gln Leu Asp Ser Leu Gly Arg Lys Lys				
50	55		60	
aca ttg ctg tct gaa tca agt tct cag tcc tca aaa tct cca tcc ctg				240
Thr Leu Leu Ser Glu Ser Ser Gln Ser Ser Lys Ser Pro Ser Leu				
65	70		75	80
tca tca aag caa cag cac cag cca agt gcc agt tca att tta gaa agt				288
Ser Ser Lys Gln Gln His Gln Pro Ser Ala Ser Ser Ile Leu Glu Ser				
85	90		95	
ctg ttt cga tct ttt gcc ccg gga atg tct acc ttc aga gtg ctc tac				336
Leu Phe Arg Ser Phe Ala Pro Gly Met Ser Thr Phe Arg Val Leu Tyr				
100	105		110	
aac tta gaa gtt cta agc tcc aaa ctc atg cca aca gct gat gat gac				384
Asn Leu Glu Val Leu Ser Ser Lys Leu Met Pro Thr Ala Asp Asp Asp				
115	120		125	
atg gcc aga agc tgt gcc aaa tcc ttc tgt gaa aac ttc ctc aaa gct				432
Met Ala Arg Ser Cys Ala Lys Ser Phe Cys Glu Asn Phe Leu Lys Ala				
130	135		140	
ggc ggt ttg agt ttg gtt gta aat gtc atg cag aga gac tcc atc cca				480
Gly Gly Leu Ser Leu Val Val Asn Val Met Gln Arg Asp Ser Ile Pro				
145	150		155	160
tca gaa gta gac tat gaa aca agg cag ggt gtt tat tcc atc tgt cta				528
Ser Glu Val Asp Tyr Glu Thr Arg Gln Gly Val Tyr Ser Ile Cys Leu				
165	170		175	
cag ctt gca aga ttt tta ctt gtc gga caa aca atg ccc acg tta tta				576
Gln Leu Ala Arg Phe Leu Leu Val Gly Gln Thr Met Pro Thr Leu Leu				
180	185		190	
gat gaa gac ctc acc aaa gat ggt ata gaa gca ctt tct tcc cgc cca				624
Asp Glu Asp Leu Thr Lys Asp Gly Ile Glu Ala Leu Ser Ser Arg Pro				
195	200		205	

ttc cga aat gtc agc cgg cag aca agc aga cag atg tcc tta tgt ggt 672  
 Phe Arg Asn Val Ser Arg Gln Thr Ser Arg Gln Met Ser Leu Cys Gly  
 210 215 220

acc cca gaa aag tca tcc tac cga cag ttg tcc gtg tct gat agg tct 720  
 Thr Pro Glu Lys Ser Ser Tyr Arg Gln Leu Ser Val Ser Asp Arg Ser  
 225 230 235 240

tct att agg gtt gag gaa atc atc cct gct gct cga gtt gca ata caa 768  
 Ser Ile Arg Val Glu Glu Ile Ile Pro Ala Ala Arg Val Ala Ile Gln  
 245 250 255

aca atg gaa gta agt gat ttc act tct act gtg gct tgc ttc atg aga 816  
 Thr Met Glu Val Ser Asp Phe Thr Ser Thr Val Ala Cys Phe Met Arg  
 260 265 270

ttg tca tgg gct gcg gct gca gga cgg ctt gat ctt gtt ggg agt agc 864  
 Leu Ser Trp Ala Ala Ala Gly Arg Leu Asp Leu Val Gly Ser Ser  
 275 280 285

cag cca att aaa gaa agt aat tcc ctg tgt cct gct gga att cga aac 912  
 Gln Pro Ile Lys Glu Ser Asn Ser Leu Cys Pro Ala Gly Ile Arg Asn  
 290 295 300

aga ctc agc agt tca gga agc aat tgc agc tct gga agt gaa gga gaa 960  
 Arg Leu Ser Ser Gly Ser Asn Cys Ser Ser Gly Ser Glu Gly Glu  
 305 310 315 320

cca gta gcc ctg cat gcg gga atc tgt gtt cga caa cag tct gta tcc 1008  
 Pro Val Ala Leu His Ala Gly Ile Cys Val Arg Gln Gln Ser Val Ser  
 325 330 335

acc aaa gac tcg ctg att gcg gga gag gct ttg tct ctt ctt gtt acg 1056  
 Thr Lys Asp Ser Leu Ile Ala Gly Glu Ala Leu Ser Leu Leu Val Thr  
 340 345 350

tgc cta cag ctt cgg agc cag caa ctg gca tct ttc tat aac ttg ccc 1104  
 Cys Leu Gln Leu Arg Ser Gln Gln Leu Ala Ser Phe Tyr Asn Leu Pro  
 355 360 365

tgt gtt gct gat ttc atc att gat att ctg ctc gga tca cca agt gct 1152  
 Cys Val Ala Asp Phe Ile Ile Asp Ile Leu Leu Gly Ser Pro Ser Ala  
 370 375 380

gag att cgc cgg gtt gcc tgt gat cag ctg tac act ctt agt cag aca 1200  
 Glu Ile Arg Arg Val Ala Cys Asp Gln Leu Tyr Thr Leu Ser Gln Thr  
 385 390 395 400

gac aca tca gcg cat cca gat gtg cag aag cca aat cag ttt ctt cta 1248  
 Asp Thr Ser Ala His Pro Asp Val Gln Lys Pro Asn Gln Phe Leu Leu

405	410	415	
ggc gta atc ctc acg get cag ctg cct ctc tgg tct cca act agt att 1296			
Gly Val Ile Leu Thr Ala Gln Leu Pro Leu Trp Ser Pro Thr Ser Ile			
420	425	430	
atg aga gga gtc aat cag aga ctg tta tct cag tgt atg gag tat ttt 1344			
Met Arg Gly Val Asn Gln Arg Leu Leu Ser Gln Cys Met Glu Tyr Phe			
435	440	445	
gat ttg aga tgc cag tta tta gat gat ctg aca act tca gaa atg gag 1392			
Asp Leu Arg Cys Gln Leu Leu Asp Asp Leu Thr Thr Ser Glu Met Glu			
450	455	460	
cag tta agg atc agc cca gct acg atg ctt gaa gat gag att act tgg 1440			
Gln Leu Arg Ile Ser Pro Ala Thr Met Leu Glu Asp Glu Ile Thr Trp			
465	470	475	480
ctg gat aac ttt gaa cct aat cgt aca gct gaa tgt gag acc agt gaa 1488			
Leu Asp Asn Phe Glu Pro Asn Arg Thr Ala Glu Cys Glu Thr Ser Glu			
485	490	495	
gcg gac aac atc tta ctg gca ggg cac tta cgc ctc atc aag acc ctt 1536			
Ala Asp Asn Ile Leu Leu Ala Gly His Leu Arg Leu Ile Lys Thr Leu			
500	505	510	
ctt tca ctc tgt ggg gca gaa aag gaa 1563			
Leu Ser Leu Cys Gly Ala Glu Lys Glu			
515	520		
<210> 5			
<211> 32			
<212> DNA			
<213> Artificial Sequence			
<220>			
<223> Description of Artificial Sequence:Designed			
oligonucleotide for using as a primer			
<400> 5			
aaaaagcagg ctatgccatg gagcaggaga aa 32			
<210> 6			
<211> 52			
<212> DNA			
<213> Artificial Sequence			
<220>			
<223> Description of Artificial Sequence:Designed			
oligonucleotide for using as a primer			
<400> 6			
ggggaccact ttgtacaaga aagctgggtt ctagggatca acatcatcaa gg 52			
<210> 7			
<211> 27			

<212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence:Designed  
 oligonucleotide for using as a primer  
 <400> 7  
 gggacaagg ttgtacaaaaa agcaggc 27  
 <210> 8  
 <211> 36  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> Description of Artificial Sequence:Designed  
 oligonucleotide for using as a primer  
 <400> 8  
 ggtggtgcaa cttcttatat gaatgcagtc tttcag 36

【図面の簡単な説明】

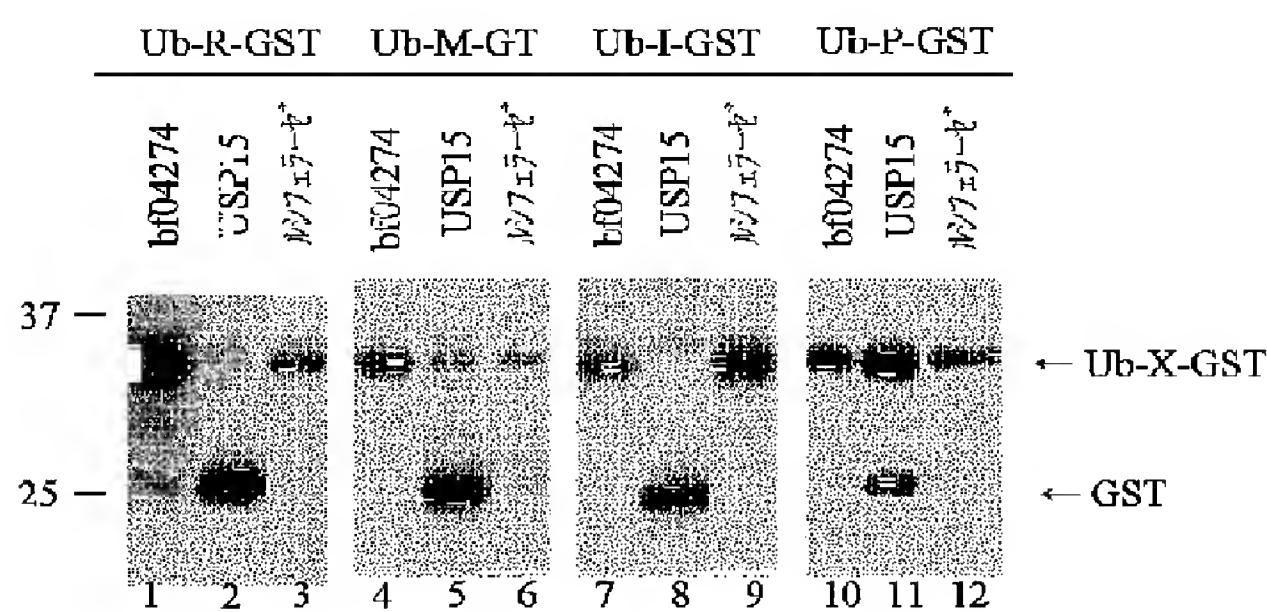
【図1】 b f 0 4 2 7 4 の脱ユビキチン化活性が、b f 0 4 2 7 4 と人工基質 (Ub-R-GST、Ub-M-GST、Ub-I-GST、またはUb-P-GST) とを共に大腸菌で発現させた共発現系で認められたことを示す図である。図中、USP15およびルシフェラーゼは、それぞれ脱ユビキチン化活性の陽性コントロールおよび陰性コントロールである。レーン左側の数値は分子量を示す。

【図2】 b f 0 4 2 7 4 の推定酵素活性部位である、N末端から第634番目のシステイン (C) 残基をセリヌ (S) 残基に置換すると (b f 0 4 2 7 4 C 6 3 4 S) 、その脱ユビキチン化活性が消失したこ

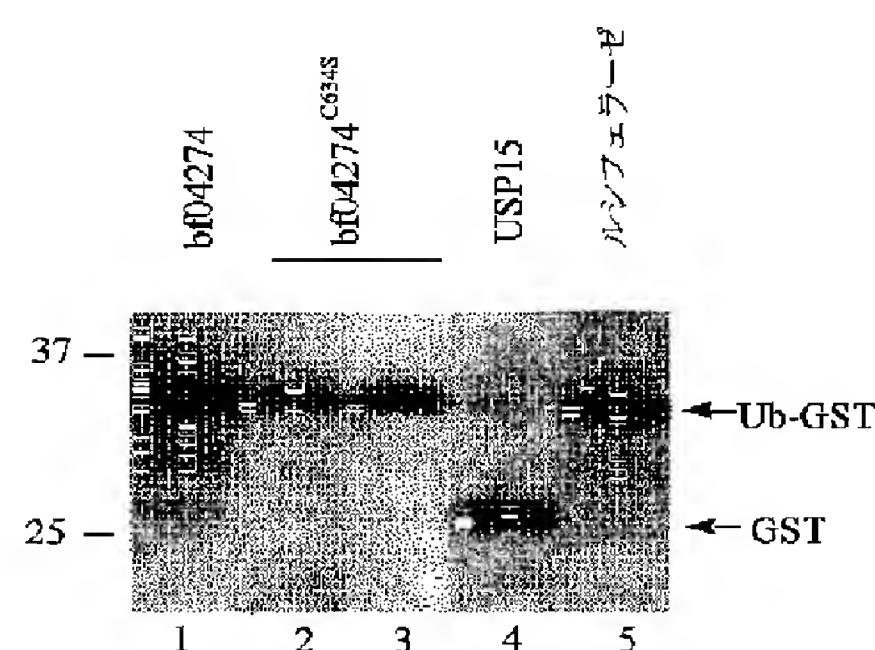
とを示す図である。図中、USP15およびルシフェラーゼは、それぞれ脱ユビキチン化活性の陽性コントロールおよび陰性コントロールである。レーン左側の数値は分子量を示す。

【図3】 b f 0 4 2 7 4 のN末端から521アミノ酸残基を欠失させたKIAA1057-1の脱ユビキチン化活性が、KIAA1057-1と人工基質 (Ub-R-GST、Ub-M-GST、Ub-I-GST、またはUb-P-GST) とを共に大腸菌で発現させた共発現系で認められたことを示す図である。図中、USP15およびルシフェラーゼは、それぞれ脱ユビキチン化活性の陽性コントロールおよび陰性コントロールである。レーン左側の数値は分子量を示す。

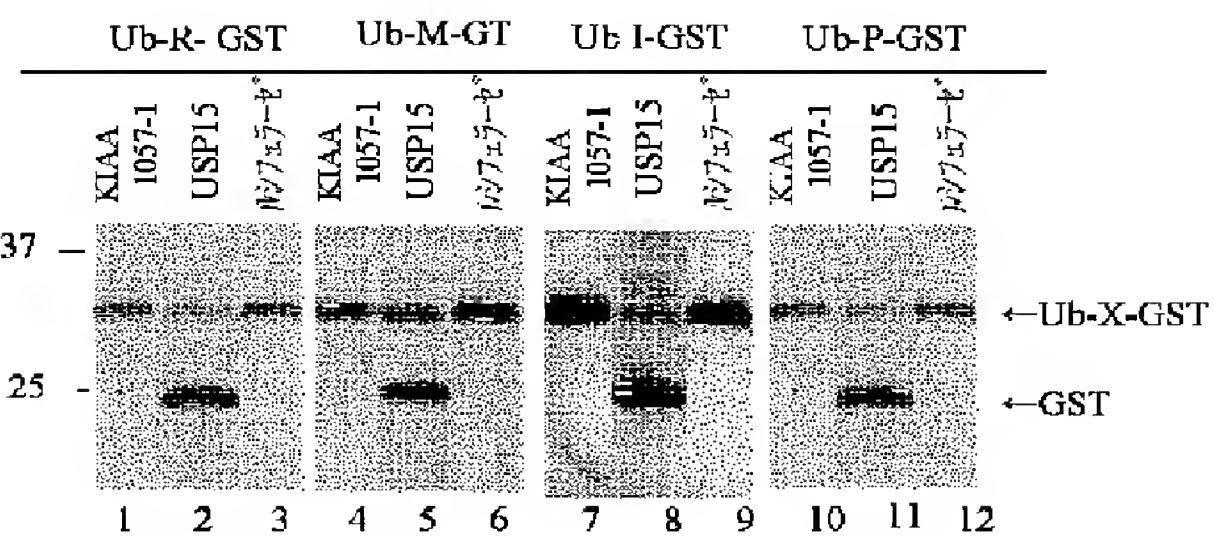
【図1】



【図2】



【図3】



フロントページの続き

(51) Int. Cl. 7	識別記号	F I	(参考)
A 6 1 P	25/00	A 6 1 P 25/28	4 B 0 6 5
	25/16	C 0 7 K 14/81	4 C 0 8 4
	25/28		4 C 0 8 5
C 0 7 K	14/81	C 1 2 N 1/15	4 H 0 4 5
	16/40		1/19
C 1 2 N	1/15		1/21
	1/19		9/50
	1/21	C 1 2 P 21/02	C
	5/10	C 1 2 Q 1/37	
	9/50		1/68
C 1 2 P	21/02	G 0 1 N 33/15	Z
C 1 2 Q	1/37		33/50
	1/68	C 1 2 N 15/00	Z N A A
G 0 1 N	33/15		5/00
	33/50	A 6 1 K 37/02	A

(72) 発明者 長瀬 隆弘

千葉県木更津市矢那1532番3号 財団法人  
かずさディー・エヌ・エー研究所内

(72) 発明者 大石 道夫

千葉県木更津市矢那1532番3号 財団法人  
かずさディー・エヌ・エー研究所内

(72) 発明者 横田 博

東京都江戸川区北葛西1丁目16番13号 第  
一製薬株式会社東京研究開発センター内

(72) 発明者 下村 知栄子

東京都江戸川区北葛西1丁目16番13号 第  
一製薬株式会社東京研究開発センター内

Fターム(参考) 2G045 AA25 AA40 BB03 BB20 CA25  
CB01 CB03 CB07 CB13 CB21  
DA12 DA13 DA20 DA36 DA77  
FB01 FB02 FB03  
4B024 AA01 AA11 BA14 BA19 BA61  
CA04 DA01 DA02 DA05 DA06  
DA11 EA04 GA01 GA11 HA08  
HA11 HA19  
4B050 CC01 CC03 DD11 EE10 LL01  
LL03  
4B063 QA18 QQ02 QQ08 QQ13 QQ36  
QQ44 QQ53 QR16 QR32 QR42  
QR48 QR55 QR62 QR72 QR78  
QS28 QS32 QS33 QS34  
4B064 AG23 AG26 CA02 CA05 CA10  
CA11 CA19 CA20 DA01 DA13  
4B065 AA01X AA26X AA57X AA87X  
AA93Y AB01 AB02 BA02  
BA08 CA24 CA33 CA44 CA46  
4C084 AA02 AA07 AA13 AA17 BA20  
BA22 BA35 MA52 MA55 MA66  
NA14 ZA011 ZA021 ZA161  
ZC781  
4C085 AA13 AA14 BB11 CC04 CC05  
DD22 DD23 DD33 GG01 GG08  
4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA09  
CA40 DA75 DA89 EA20 EA50  
FA74